



# BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas  
Laboratorio de Microbiología de Suelos

ICUAP

**Respuesta del cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*)  
a la aplicación de bacterias tipo PGPR y bioestimulantes**

Tesis para obtener el título en:  
LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA

Presenta:  
Guadalupe González Luna

Director: M. en C. Moisés Graciano Carcaño Montiel

Co-Directora: Dra. Lucía López Reyes

Diciembre 2025



## **Agradecimientos**

Al concluir esta etapa tan importante en mi formación académica, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que formaron parte de esta etapa.

En primer lugar, agradezco profundamente a mis padres, quienes con su esfuerzo, apoyo incondicional y ejemplo de vida me enseñaron a nunca rendirme.

A mis hermanos y a mi sobrina que estuvieron presentes brindándome su apoyo y ánimos, y cuidando de mí para que pudiera continuar adelante.

Agradezco de manera especial a mi director y codirectora de tesis, al Profe Moi y la Dra. Lucy, por su guía, paciencia, exigencia académica y valiosas sugerencias que enriquecieron el desarrollo de este trabajo.

A mi mejor amiga Gaby por ser mi amiga incondicional y por compartir conmigo los mejores momentos de la universidad.

Al laboratorio de Microbiología de suelos por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto, y permitirme conocer a grandes personas. En particular, agradezco a la Mtra. Lety por su paciencia, sus consejos y enseñanzas; así como a Ricardo, Dra. Lupita, Alicia, Karime, Abraham, Jesús, Mónica e Ingrid quienes formaron parte de este trabajo y con quienes compartí aprendizajes y experiencias valiosas.

Finalmente, agradezco a **BIOFERTIBUAP** por brindarme los recursos y el respaldo necesario para llevar a cabo este proyecto, y a la **VIEP** por su apoyo institucional.

## TABLA DE CONTENIDO

índice de Cuadros .....	6
índice de figuras .....	7
RESUMEN .....	8
1. INTRODUCCIÓN .....	9
2. MARCO TEÓRICO.....	11
2.1. Producción de alimentos .....	11
2.2. Uso de fertilizantes para la producción de cultivos .....	11
2.3. Fertilizantes químicos en la nutrición de las plantas .....	12
2.4. Ácidos orgánicos en la nutrición de las plantas .....	12
2.5. Ácidos húmicos en la nutrición de plantas .....	13
2.6. Nutrientes en el desarrollo de las plantas .....	14
2.7. Conceptos del suelo.....	17
2.8. Materia orgánica del suelo.....	17
2.9. Microorganismos del suelo .....	18
2.10. Microorganismos benéficos del suelo.....	19
2.11.1. Establecimiento de cultivo .....	22
2.11.2. Riego .....	23
2.11.3. Fertilización y nutrición.....	23
2.12. Producción de brócoli en la región central de México.....	24
2.13. Inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) en el cultivo de brócoli.....	24
2.14. Bioestimulación.....	27
2.15. Enfermedades asociadas al cultivo de brócoli.....	28
2.15.1. Pudrición del florete .....	28
2.15.2. Pudrición húmeda/ blanda.....	29
2.15.3. Pudrición negra .....	29
2.15.4. Hernia o potra.....	29
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	31
4. JUSTIFICACIÓN.....	32

<b>5.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>33</b>
5.1.	Objetivo general.....	33
5.2.	Objetivo particular .....	33
<b>6.</b>	<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>34</b>
<b>7.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>35</b>
7.1.	Material biológico: selección de semillas .....	35
7.2.	Fase de laboratorio .....	35
7.2.1.	Análisis de suelo .....	35
7.2.2.	Pruebas de germinación y sanidad en las semillas de brócoli .....	35
7.2.3.	Selección de bacterias .....	37
7.2.4.	Preparación de inoculos bacterianos.....	37
7.3.	Fase de invernadero .....	38
7.3.1.	Preparación de semillas inoculadas.....	38
7.3.2.	Preparación de charolas de germinación .....	38
7.3.3.	Experimento de invernadero .....	39
7.4.	Fase de campo .....	40
7.4.1.	Localización del área experimental.....	40
7.4.2.	Preparación del suelo para el experimento de campo .....	41
7.4.3.	Siembra de brócoli en campo.....	43
7.4.4.	Preparación de tratamientos para aplicación en campo.....	43
7.5.	Análisis estadístico.....	44
<b>8.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>45</b>
8.1.	Análisis del suelo.....	45
8.2.	Porcentaje de germinación .....	46
8.3.	Evaluación de datos de invernadero .....	49
8.3.1.	Altura de plantas de brócoli .....	49
8.3.2.	diámetro y longitud del tallo en plantas de brócoli .....	50
8.3.3.	Cuantificación de la masa de brócoli .....	52
8.4.	Evaluación de parámetros de campo .....	54
8.4.1.	Altura de plantas de brócoli .....	54

8.4.2.	Longitud y diámetro del tallo .....	56
8.4.3.	Evaluación de la longitud y masa fresca de raíz.....	59
8.4.4.	Evaluación de masa y altura del florete.....	61
8.4.6.	Número de hojas .....	63
9.	CONCLUSIÓN.....	66
10.	BIBLIOGRAFÍA .....	67

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Situación agrícola, año 2020 (diciembre), (SIAP) del cultivo de brócoli en los estados de mayor producción.	25
Cuadro 2	Bacterias seleccionadas para la nutrición de <i>Brassica oleracea</i> var. <i>Italica</i> .	37
Cuadro 3	Población bacteriana utilizada en cada tratamiento.	38
Cuadro 4	Tratamientos aplicados en el cultivo de <i>Brassica oleracea</i> var. <i>Italica</i> en San Cristóbal los Nava, Tepeaca, Puebla.	42
Cuadro 5	Análisis físico y químico del suelo de la zona de estudio.	45
Cuadro 6	Análisis microbiológico del suelo de la zona de estudio.	46
Cuadro 7	Porcentaje de germinación de las semillas de brócoli inoculadas.	46
Cuadro 8	Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre la altura en las plantas de brócoli.	49
Cuadro 9	Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre el diámetro del tallo en las plantas de brócoli.	50
Cuadro 10	Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre la longitud del tallo en las plantas de brócoli.	51
Cuadro 11	Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre la masa fresca del follaje y la masa de la raíz del brócoli.	53
Cuadro 12	Efecto de los tratamientos aplicados sobre la altura de la planta del brócoli.	55
Cuadro 13	Efecto de la longitud y diámetro del tallo del brócoli al aplicar bioestimulantes.	57
Cuadro 14	Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre la longitud de raíz.	60
Cuadro 15	Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre la altura del florete.	61
Cuadro 16	Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre la masa del florete.	62
Cuadro 17	Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la masa fresca total de la planta de brócoli.	63
Cuadro 18	Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el número de hojas.	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Prueba de germinación y sanidad de semillas en placa Petri.	36
Figura 2	Germinación de semillas de <i>Brassica oleracea</i> var <i>italica</i> .	39
Figura 3	Experimento en invernadero.	40
Figura 4	Ubicación satelital de San Cristóbal los Nava.	41
Figura 5	Diseño experimental en campo.	42
Figura 6	Trasplante de brócoli en campo.	43
Figura 7	Germinación de semillas de brócoli in vitro. A) <i>P. fluorescens</i> , B) Control.	47
	Hongos asociados a la semilla y raíz de <i>Brassica oleracea</i> var <i>italica</i> :	
Figura 8	A) <i>Alternaria spp.</i> , B) <i>Ulocladium spp.</i>	48
Figura 9	Comparación de altura entre los tratamientos, fotografía tomada en el día 90: A) Control, B) Mezcla Bacteriana, C) Mezcla Bacteriana + Ácidos Húmicos.	51
Figura 10	Comparación de masa fresca y masa de raíz en platas de brócoli, tratadas con A) MBAH, B) Control.	53
Figura 11	Comparación de la altura entre los tratamientos de A) Control, B) MBAO y C) MBF50.	56
Figura 12	Comparación de la longitud de tallo en los tratamientos de A) MBF50 B) MBF100, C) MB, D) MBAOMM, E) MBAH.	58
Figura 13	Comparación del diámetro de tallo en los tratamientos de A) Control B)MBF100, C)MBAO D) BFN.	58
Figura 14	Comparación de la masa de raíz entre los tratamientos a) Control, b) BFN c) BSF, d) BR, e) MB.	60
Figura 15	Comparación entre la masa del florete entre: A) MBF50, B)MBF100, C) BFN, D) Control .	62

## RESUMEN

El brócoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*), es una hortaliza que posee un alto valor nutricional con propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antimicrobianas. A nivel nacional, Puebla, Michoacán y Guanajuato son los estados con mayor producción de brócoli y en el ámbito internacional, México ocupa el quinto lugar como productor de brócoli y es el segundo país exportador.

En esta investigación se proponen estrategias biotecnológicas para la nutrición del cultivo, mediante la aplicación de biofertilizantes a base de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR por sus siglas en inglés) y bioestimulantes.

Se realizó un diseño experimental en campo e invernadero, compuesto por bloques completamente al azar, se aplicaron 10 tratamientos que incluyen: 1) bacterias fijadoras de nitrógeno (*Azospirillum brasilense*) 2) bacterias solubilizadoras de fosfato (*Pseudomonas fluorescens*), 3) bacterias promotoras del crecimiento vegetal (*Raoultella planticola*), 4) mezcla bacteriana (*Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas fluorescens* y *Raoultella planticola*), 5) mezcla bacteriana + ácidos húmicos, 6) mezcla bacteriana + ácidos húmicos y macro y micronutrientes, 7) mezcla bacteriana + ácidos orgánicos, 8) mezcla bacteriana + fertilización al 50%. 9) mezcla bacteriana + fertilización al 100%. 10) Control. Se realizaron 3 aplicaciones foliares de los tratamientos, a excepción del tratamiento control y los tratamientos de fertilizante químico. Se evaluó el efecto de los tratamientos en planta al medir los parámetros como la masa fresca de raíz, follaje, masa del florete, diámetro y longitud del tallo, masa y longitud de la raíz.

Se evidenció que la inoculación con PGPR, en combinación con bioestimulantes como ácidos orgánicos y húmicos, presenta efectos positivos sobre el desarrollo de las plantas de brócoli, y se reduce el uso de fertilizantes químicos un 50%, demostrando que esta estrategia es una alternativa efectiva y sostenible para los productores.

## 1. INTRODUCCIÓN

El brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) es una hortaliza que pertenece a la familia de las Brassicáceas, es originario del Mediterráneo oriental (Li *et al.*, 2022). El cultivo de brócoli es anual y se desarrolla mejor en las estaciones de otoño-invierno. Actualmente el brócoli es considerado como una de las hortalizas de gran importancia, presenta un alto valor nutricional por su contenido de: vitaminas (A, B1, B2, B5, B6, E), elementos minerales, ácido fólico, riboflavina y niacina (Alshwaili *et al.*, 2023), y por sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antimicrobianas, derivadas de los compuestos bioactivos (compuestos fenólicos y los glucosinolatos) (Pacheco-Cano *et al.*, 2020).

De acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) en México la superficie sembrada de brócoli en el 2017 fue de 33 mil 469 hectáreas, de las cuales se obtuvieron 567.0 mil toneladas a nivel nacional; donde el estado de Guanajuato es el mayor productor, seguido por Michoacán, Puebla y Sonora. A nivel mundial México ocupa el 5° lugar como productor de brócoli, y es el 2° país exportador de este producto según la FAOSTAT (2020), principalmente a Estados Unidos, Canadá y Japón, en donde se exporta el 90% y el resto es para el consumo nacional.

En cuanto a los principales usos del brócoli, la mayor parte de la producción es destinada al consumo humano y animal, por otra parte, se ha utilizado para la elaboración de biocombustibles, biofumigantes y productos con aplicaciones médicas (Gudiño *et al.*, 2022).

El peso fresco de una planta de brócoli madura entera puede ser de aproximadamente 776 g, en donde sus hojas constituyen la porción más grande de una planta madura, representando el 47 %, seguidas por los tallos 21 %, las raíces 17 % y floretes 15% (Li *et al.*, 2022).

Para un buen sistema de producción, se requiere de la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio, además de microelementos, con dosis de 200-40-00 de NPK, en la región central de México como el Bajío (Guanajuato) se recomienda la fórmula 400-150-100 (Zamora, 2016). Actualmente se han desarrollado biotecnologías para nutrir los cultivos a base microorganismos benéficos que estimulen el desarrollo de las plantas. El uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) como alternativa biológica para el desarrollo de cultivos hortícolas,

con la aplicación de bacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfatos y productoras de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, puede mejorar el desarrollo del cultivo (AcurioVásconez *et al.*, 2020).

Los bioestimulantes son compuestos naturales que optimizan los procesos del metabolismo vegetal, favorecen la absorción y eficiencia de los nutrientes y aumentan los procesos fisiológicos de los cultivos (Morales *et al.*, 2021), incluyen sustancias o microorganismos que mejoran el crecimiento vegetal y entre ellos se encuentran: los ácidos húmicos y fúlvicos, hidrolizados de proteínas animales y vegetales, extractos de algas y botánicos, hongos benéficos , bacterias benéficas y biopolímeros como el quitosano (Rivera *et al.*, 2023).

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Producción de alimentos**

En la actualidad uno de los mayores retos a los que se enfrenta la humanidad es satisfacer las necesidades alimentarias. Debido a un alto incremento demográfico, hay una mayor demanda de alimentos, por lo que se busca un incremento en la producción sostenible de alimentos. En la Agenda 2030 se describe el segundo Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS) “Hambre Cero”, con el propósito de erradicar el hambre; al mismo tiempo, se busca una mayor productividad agrícola, tomando en cuenta la seguridad alimentaria, beneficiando a los productores y consumidores, así como al medio ambiente, reduciendo el impacto ambiental.

En México, la producción de alimentos es una de las actividades primarias más importantes del país y es la principal fuente económica de los productores. Existen una gran variedad de tecnologías para la producción de alimentos y estas varían dependiendo de la escala de producción, los agricultores que producen a pequeña escala utilizan tecnologías tradicionales (riego, preparación del suelo) que han heredado de generación en generación; mientras que los productores que producen a gran escala utilizan tecnologías de vanguardia, no obstante, existen tecnologías que comparten, como el uso de insumos agrícolas (fertilizantes y pesticidas), el tipo de tecnología utilizada está directamente relacionado con la producción final de alimentos, en cuanto a rendimientos, valor nutricional y el impacto ambiental que se genera (SADER, 2024).

### **2.2. Uso de fertilizantes para la producción de cultivos**

Para los productores el uso de fertilizantes incrementa en gran medida el rendimiento de sus cultivos, lo que implica mayores ganancias económicas; actualmente en América Latina aumentó significativamente el uso de fertilizantes sintéticos. Se estima que en el 2018 se utilizaron alrededor de 190 millones de toneladas de fertilizantes inorgánicos (ONU, 2022).

Debido a los beneficios que producen los fertilizantes en los cultivos, han provocado graves problemas ambientales y ecológicos ya que el potencial de contaminación de una fertilizante deriva principalmente por su uso excesivo e inadecuado ( Chávez-Díaz *et al.*, 2020).

### **2.3. Fertilizantes químicos en la nutrición de las plantas**

El objetivo principal de los fertilizantes químicos es proveer a los cultivos los nutrientes asimilables necesarios, cuando el suelo ya no proporciona los nutrientes mínimos, el crecimiento es limitado y los rendimientos de los cultivos son reducidos; por tal motivo, la aplicación de nutrientes derivados de fertilizantes químicos es una alternativa para los productores al incrementar la productividad del cultivo (Asociación Internacional de la Industria de los Fertilizantes, 2002). Los rendimientos a partir del uso de los fertilizantes se ven duplicados, y varían en función de las dosis de aplicación; se ha comprobado que al incorporar fertilizantes en suelos con baja fertilidad aumenta la profundidad de las raíces de las plantas, lo que permite una mayor obtención de nutrientes, se comportan como componentes clave para el éxito de los cultivos, ya que suministran los elementos esenciales que podrían estar faltantes en el suelo. En términos de prácticas agronómicas para un buen rendimiento, la fertilización desempeña un rol crucial en la eficacia y calidad de los productos agrícolas obtenidos (Alcantar- González et al., 2007).

Entre los nutrientes que se adicionan al suelo mediante la aplicación de fertilizantes se encuentran los macronutrientes como el nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca) y magnesio (Mg), principalmente (Galindo *et al.*, 2020). El nitrógeno se considera como uno de los macronutrientes esenciales para las plantas, de tal manera que los fertilizantes nitrogenados son los más empleados por los agricultores (Arévalo & Castellano, 2009).

### **2.4. Ácidos orgánicos en la nutrición de las plantas**

Los ácidos orgánicos se caracterizan por tener una estructura simple que contiene de uno a tres grupos carboxílicos. Su peso molecular oscila entre 46 y 100 Da (Dalton), razón por la cual se clasifican como ácidos orgánicos de bajo peso molecular (LMWOA, por sus siglas en inglés). Se obtienen de procesos como la descomposición de la materia orgánica, la segregación de exudados de las raíces de las plantas y las secreciones microbianas. Entre los principales ácidos orgánicos presentes en el suelo se encuentran los ácidos cítrico, láctico, fumárico, acético, fórmico, oxálico, tartárico, succínico, por mencionar algunos (Sindhu *et al.*, 2022; Farhad *et al.*, 2023).

Los ácidos orgánicos ejercen efectos bioestimulantes sobre las plantas promoviendo el crecimiento y rendimiento vegetal, se encargan de la solubilización y disponibilidad de macro y micronutrientes presentes en el suelo, que difícilmente son asimilables por las plantas, actúan como agentes quelantes al formar complejos con elementos de baja movilidad como el Ca, Zn, B, Mg, Fe, y el P formando enlaces fuertes con los iones provocando la solubilización de los elementos en formas más aprovechable para las plantas (Sindhu *et al.*, 2022). En el caso de compuestos insolubles de fosfato inorgánico como: fosfato dicálcico, fosfato tricálcico, y roca fosfórica, los ácidos orgánicos acidifican el suelo y actúan directamente sobre los iones metálicos, transformando al fósforo en compuestos solubles para las plantas (Corrales *et al.*, 2014).

Los ácidos orgánicos que son liberados a partir de los exudados de las raíces de las plantas tienen un comportamiento quimiotáctico, al inducir que la comunidad microbiana del suelo se incremente (Macias *et al.*, 2020). La aplicación exógena de ácidos orgánicos en plantas que se encuentran en condiciones de estrés abióticos como: sequía, salinidad, alcalinidad y temperatura, conduce a una mayor tolerancia ante cualquier tipo de estrés que afecte al desarrollo vegetal, y a su vez influyen significativamente promoviendo el crecimiento vegetal al mejorar características físicas y bioquímicas de las plantas (Farhad *et al.*, 2023). Por otro lado, los ácidos orgánicos se han utilizado para desintoxicar suelos de metales pesados y pesticidas al comportarse como agentes quelantes. Se ha demostrado que las plantas que presentan la capacidad de liberar mayor cantidad de ácidos orgánicos a partir de exudados acumulan mayor cantidad de metales pesados.

## **2.5. Ácidos húmicos en la nutrición de plantas**

Las sustancias húmicas son ácidos orgánicos de alto peso molecular (HMWOA por sus siglas en inglés) poseen un peso molecular de cien a un millón de Dalton. Se obtienen a partir de un proceso de humificación en donde los residuos orgánicos se degradan en moléculas más pequeñas que reaccionan, se polimerizan y se poli condensan con ayuda de enzimas y los microorganismos presentes en el suelo, hasta formar macromoléculas (Tiwari *et al* 2022). Se clasifican en función de su solubilidad: ácidos húmicos solubles en pH alcalino, ácidos fúlvicos solubles en pH ácido y alcalino, y las huminas son insolubles en pH ácido y alcalino. En la agricultura, los ácidos húmicos y fúlvicos se han utilizado como bioestimulantes, y su eficiencia

depende del tipo de aplicación, la dosis aplicada, la edad de la planta y el órgano en el que se aplica (de Moura *et al.*, 2023).

En planta los ácidos húmicos mejoran la absorción de nutrientes, se comportan como agentes quelantes y forman complejos estables con los micronutrientes presentes en el suelo (Tiwari *et al* 2022), actúan como un promotor del crecimiento vegetal, incrementa la actividad enzimática (ATPasa) en la raíz y se comportan como hormonas vegetales (auxinas) encargadas de la elongación del sistema radicular aumentando la absorción de nutrientes (de Moura *et al.*, 2023). A nivel bioquímico los ácidos húmicos estimulan y regulan el metabolismo de carbohidratos, ácidos grasos, aminoácidos y proteínas, actúan directamente sobre la fotosíntesis e incrementan la concentración de clorofila (Caballero *et al.*, 2022; de Moura *et al.*, 2023).

Todas estas propiedades de los ácidos húmicos sobre las plantas se reflejan en las características fisiológicas, pues se ha demostrado que tras su aplicación existe un incremento en la biomasa vegetal, hay mayores rendimientos de producción e inducen el crecimiento y desarrollo (Tiwari *et al.*, 2022). Estimulan la actividad microbiana del suelo, tienen un efecto amortiguador redox que promueve el crecimiento y el metabolismo de los microorganismos (Jin *et al.*, 2024), de este modo, mejoran la salud del suelo.

Se utilizan para la descontaminación de suelos contaminados por metales pesados, pesticidas y sustancias orgánicas, al transformarlos y movilizarlos debido a sus propiedades quelantes (Caballero *et al.*, 2022).

## **2.6. Nutrientes en el desarrollo de las plantas**

Las plantas necesitan de nutrientes esenciales para crecer adecuadamente, es fundamental manejar estos elementos de forma equilibrada para reducir el uso de productos químicos y para conservar la fertilidad del suelo. Los nutrientes requeridos por las plantas se dividen en dos grupos: macronutrientes que se requieren en altas concentraciones, y micronutrientes que se requieren en concentraciones mínimas.

Entre los macronutrientes se encuentran: nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S).

Nitrógeno (N). Es un macronutriente y componente principal de moléculas como proteínas, ácidos nucleicos, enzimas, coenzimas y clorofila. Desempeña un papel fundamental en el metabolismo celular; es esencial para los procesos de síntesis de almidón en las hojas, de proteínas y en la producción de aminoácidos (Kumar *et al.*, 2021; De Bang *et al.*, 2021).

Fósforo (P). Es el elemento estructural de los ácidos nucleicos, las membranas celulares y las enzimas, cumple un papel clave en el metabolismo energético, a través del adenosín trifosfato (ATP) que se encarga de la transferencia de energía en las células, y es esencial en la señalización y activación enzimática (Kumar *et al.*, 2021; De Bang *et al.*, 2021).

Potasio (K). interviene en el mantenimiento del potencial osmótico en el interior de las células vegetales, es decir, se encarga de la regulación de la turgencia que está relacionado con la expansión y el crecimiento celular, controla la apertura y cierre de las estomas y facilita el flujo de los nutrientes en toda la planta mediante la translocación del floema impulsada por la presión, y se encuentra principalmente en las vacuolas (De Bang *et al.*, 2021, Sharma *et al.*, 2025).

Calcio (Ca). Es un elemento esencial en las vías de transducción de señales, ya que forma conexiones intramoleculares e intermoleculares dentro de las células vegetales, específicamente en la pared celular y las membranas, dando lugar a respuestas celulares ante estímulos externos, del mismo modo es un elemento estructural al brindar rigidez al sistema de la pared celular (De Bang *et al.*, 2021; Sharma *et al.*, 2025).

Magnesio (Mg). Es el átomo central de la clorofila, se encuentra en mayor cantidad en los cloroplastos, entre las principales funciones del Mg dentro de las células vegetales se encuentra la formación de complejos esenciales con enzimas y sustratos, y facilitan la disponibilidad del fósforo en las plantas (De Bang *et al.*, 2021; Sharma *et al.*, 2025).

Azufre (S). Es un componente básico de aminoácidos como la cisteína y metionina, participa en la síntesis de aminoácidos, vitaminas y enzimas, actúa como cofactor del grupo prostético en proteínas que se encargan de la transferencia de electrones en la cadena de transporte de electrones fotosintética (De Bang *et al.*, 2021; Kumar *et al.*, 2021).

A pesar de que los micronutrientes se requieren en cantidades muy pequeñas son pieza fundamental para los procesos fisiológicos de las plantas. Entre los micronutrientes se encuentran el hierro (Fe), zinc (Zn), manganeso (Mn), cobre (Cu), Cloro (Cl), molibdeno (Mo), níquel (Ni), silicio (Si) y selenio (Se), entre otros.

Zinc (Zn) es un elemento principal en algunas enzimas vegetales y actúa como cofactor, participa en procesos metabólicos como la síntesis de ADN, proteínas y carbohidratos, está relacionado con la regulación de las hormonas de crecimiento, la formación de clorofila y en la producción de almidón, se encarga de la formación y maduración de las semillas (Kumar *et al.*, 2021; Sharma *et al.*, 2025).

Manganeso (Mn) es un microelemento esencial para los procesos de oxidación-reducción, está involucrado en los mecanismos de defensa celular contra el estrés oxidativo, del mismo modo se caracteriza por ser un cofactor participando en la activación enzimática de reacciones de oxidación-reducción y descarboxilación. En la fotosíntesis está presente en la proteína superóxido dismutasa, que participa en el fotosistema II y es fundamental para el proceso de la fotosíntesis (Sharma *et al.* 2025).

Cobre (Cu) presenta una alta afinidad electrónica monovalente que le dan la capacidad de participar en procesos redox. Forma complejos con diversas moléculas orgánicas, favoreciendo la protección celular por estrés oxidativo, la producción de energía y promoviendo la fotosíntesis (Sharma *et al.*, 2025).

Cloro (Cl) es utilizado por las células vegetales como ion cloruro e interviene en el proceso de la fotosíntesis en el fotosistema II, también actúa como osmorregulador en las células oclusivas estomáticas permitiendo el equilibrio hídrico y el intercambio de gases en la planta. En las vacuolas potencian la actividad de la enzima ATPasa (Sharma *et al.*, 2025).

Molibdeno (Mo) y Níquel (Ni) son indispensables en reacciones bioquímicas, se caracterizan por ser elementos de transición y son adecuados para participar en reacciones redox e intervienen en el metabolismo del nitrógeno (Sharma *et al.*, 2025).

Silicio (Si) es un micronutriente que favorece el crecimiento vegetal; además, actúa frente a diversos tipos de estrés abióticos y bióticos, beneficiando el desarrollo y rendimiento vegetal (Sharma *et al.*, 2025).

Selenio (Se) beneficia el proceso de fotosíntesis en las plantas y previene la oxidación de la membrana celular (Sharma *et al.*, 2025).

## **2.7. Conceptos del suelo**

A lo largo del tiempo el concepto de suelo ha tenido diversas interpretaciones. La FAO define al suelo como un medio natural para el crecimiento de las plantas; este medio natural consiste en capas de suelo, normalmente llamadas horizontes, los horizontes se componen de materiales de minerales meteorizados, materia orgánica, aire y agua (FAO,2024). Otros autores describen al suelo como la capa superior de la corteza terrestre alterada por la meteorización, procesos físicos/químicos y biológicos, compuesta por partículas minerales, sustancias orgánicas, agua, aire y organismos vivos organizados en horizontes genéticos del suelo (Sánchez-Moreiras & Reinoso, 2018). SEMARNAT interpreta al suelo como la capa de material fértil que recubre la superficie de la Tierra y que es explotada por las raíces de las plantas de la cual obtienen sostén, nutrientes y agua (SEMARNAT, 2012). La salud del suelo, un concepto que emerge a comienzos del siglo XXI, se define como la capacidad continuada de un suelo de funcionar como un ecosistema vital para sostener la vida de plantas, animales y seres humanos. Los suelos son la fuente de innumerables servicios y bienes esenciales para los seres humanos, incluyendo la provisión de alimentos y hábitat, la regulación del clima, la retención del agua, la detoxificación de contaminantes, la producción de sustancias bioactivas, como antibióticos y enzimas, entre otros (Zabaloy, 2021).

## **2.8. Materia orgánica del suelo**

Se denomina materia orgánica a los residuos de origen animal y vegetal que se encuentran en descomposición y se acumulan en el perfil del suelo (Izquierdo & Arévalo, 2021). Los residuos orgánicos (frutas, verduras, hojas, raíces, entre otros) pasan por un proceso de descomposición, en donde son separados en sus componentes orgánicos básicos por acción mecánica de la meso fauna; posteriormente se lleva a cabo el proceso de mineralización que

consiste en la oxidación de las unidades orgánicas básicas transformándolas en inorgánicas por la acción de enzimas intracelulares. La humificación se define como el proceso final de la transformación, en donde los compuestos que se obtienen son altamente asimilables para las plantas, microorganismos y la meso fauna del suelo (Jaramillo, 2002).

## **2.9. Microorganismos del suelo**

Los microorganismos del suelo desempeñan un papel crucial en la salud del suelo y la productividad de los cultivos (Nabi *et al.*, 2023). Están involucrados en diversas actividades, como la movilidad y absorción de nutrientes, la estimulación del crecimiento de las plantas y el manejo de enfermedades (Beigmohammadi *et al.*, 2023). Los microorganismos, como los hongos micorrízicos y las bacterias promotoras del crecimiento de las plantas, mejoran la movilidad y la absorción de nutrientes, la regulación hormonal y el manejo de enfermedades. Los microorganismos beneficiosos del suelo mejoran la salud de las plantas, el estado nutricional y la calidad del suelo, lo que los hace esenciales para la agricultura sostenible (Gutiérrez-Soto *et al.*, 2024).

En el suelo se encuentra una gran diversidad de microorganismos que cumplen un papel importante en los procesos de descomposición de la materia orgánica, intervienen en los ciclos geoquímicos y están relacionados con la fertilidad de los suelos, así como también en diversos procesos y reacciones relacionadas con la nutrición vegetal y el control de enfermedades en las plantas. Entre los principales microorganismos del suelo se encuentran las bacterias, hongos, actinomicetos y algas (Chávez-Díaz *et al.*, 2020).

Un suelo fértil alberga una población de  $10^8$  hasta  $10^9$  UFC  $g^{-1}$  de muestra (unidades formadoras de colonias por gramo de muestra) cuando un suelo se ha sometido a un proceso de degradación las UFC disminuyen hasta  $10^4$ , de tal manera que se ven afectados diversos procesos en los que participan los microorganismos del suelo. Sin embargo, en el suelo también se encuentran microorganismos no benéficos, que impiden la movilización y adsorción de nutrientes, se consideran patógenos que influyen en el ciclo de desarrollo de las plantas (Jaramillo, 2002).

## 2.10. Microorganismos benéficos del suelo

Entre los microorganismos benéficos del suelo se encuentran las bacterias, se consideran como el grupo de microorganismos más abundantes en el suelo. Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR por sus siglas en inglés) son bacterias que participan directa e indirectamente en mejorar el crecimiento de las plantas y protegerlas del estrés biótico y abiótico a través de diversos mecanismos, estas incluyen bacterias que habitan en la rizosfera, rizo plano o en otros ambientes del sistema suelo-planta y se conocen normalmente como PGPR (Sánchez-Moreiras & Reigosa, 2018). Actualmente se han aislado una gran variedad de PGPR que tienen la capacidad de asociarse al sistema radicular y benefician la planta al producir fitohormonas, realizar la fijación de nitrógeno o la solubilización de fosfatos, entre otras actividades (López-Reyes *et al.*, 2018).

Los hongos también forman parte de los microorganismos benéficos del suelo y son parte fundamental de las raíces, la relación simbiótica que existe entre hongo-raíz brinda a las plantas una mayor obtención de nutrientes, producción de fitohormonas y protección (Zúñiga-Castro & Quirós, 2021).

Dentro del manejo integrado de los cultivos, se debe considerar el manejo adecuado de la microbiología del suelo, ya que los microorganismos son responsables de la transformación de los componentes orgánicos e inorgánicos para una correcta nutrición de las plantas, actualmente sus actividades se han modificado en la agricultura convencional debido a prácticas agrícolas inadecuadas y un uso excesivo de insumos sintéticos como herbicidas y plaguicidas generando efectos negativos en la microbiología del suelo, en el ambiente y en la salud humana (Urgiles-Gomez *et al.*, 2023). Los microorganismos pueden promover el crecimiento de las plantas a partir de mecanismos directos e indirectos. Entre ellos se destacan: fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfatos, mejoramiento de las propiedades físicas, aumento del desarrollo radicular, asimilación de nutrientes de la planta, solubilidad de compuestos inorgánicos y transformación de compuestos orgánicos, producción de fitohormonas (López-Reyes *et al.*, 2018; Mamani, 2023).

### **2.10.1. *Azospirillum***

*Azospirillum* es un género de bacterias Gram negativas, es uno de los más estudiados en la microbiología de suelos, la primera vez que se identificó fue hace 100 años, las primeras bacterias que se aislaron fueron acuáticas y con el paso del tiempo se obtuvieron de suelos se debe agregar que *Azospirillum* se considera como una bacteria muy versátil, debido a que se ha aislado de una gran diversidad de ecosistemas, principalmente de suelos y climas de diversas partes del mundo y también de suelos extremófilos y contaminados (Cassán *et al.*, 2020). Para la agricultura *Azospirillum* juega un papel fundamental, ya que es una PGPR y tiene la capacidad de fijar el nitrógeno, solubilizar el fósforo y producir fitohormonas, esta está asociada directamente con la raíz (raíz-bacteria) por lo que se le denomina rizo bacteria (Licea-Herrera *et al.* 2020), coloniza la parte superior y exterior de la raíz proliferando así en el sistema radicular brindando mayor absorción de nutrientes, agua y minerales, por tal motivo se utiliza en la producción de biofertilizantes (López-Reyes *et al.*, 2018; WingChing *et al.*, 2016).

Actualmente se han reportado 21 especies. Las primeras especies descritas y más estudiadas son *A. lipoferum* y *A. brasilense*, posteriormente fueron descritas *A. amazonense*, *A. halopraeferans*, *A. irakense*, *A. largimobile*, *A. doebereineriae*, *A. oryzae*, *A. melinis*, *A. canadense*, *A. zaeae*, *A. rugosum*, *A. picis*, *A. palatum*, *A. thiophilum*, *A. formosense*, *A. humicireducens*, *A. fermentarium*, *A. himalayense*, *A. soli*, y *A. agricola*. Se encuentran presentes en el sistema suelo-planta y poseen la habilidad de favorecer el crecimiento de las plantas al mejorar la disponibilidad de nutrientes esenciales, facilitar la absorción de minerales y agua, así como fijar el nitrógeno atmosférico (Licea-Herrera *et al.*, 2020).

### **2.10.2. *Pseudomonas***

*Pseudomonas* es otro género de bacterias Gram negativas que se encuentra en gran abundancia en suelos y actualmente es de gran relevancia para la agricultura. Es una bacteria promotora del crecimiento vegetal y está asociada al sistema radicular, es solubilizadora de fosfatos y produce fitohormonas como el AIA (ácido indol acético) (Sánchez & Guerra, 2022). Otra de las características de este género es su capacidad antagónica y de biocontrol de fitopatógenos, actúa a partir de la producción de antibióticos, sideróforos, liberación de enzimas,

por mencionar algunos modos de acción antagónica (Álvarez-García *et al.*, 2020). Por su actividad enzimática se reporta como un grupo de microorganismos importantes, llevan a cabo la biodegradación aeróbica de compuestos orgánicos en diversos ecosistemas. Se localizan en ecosistemas acuáticos y terrestres, su actividad es fundamental en los suelos son controladoras de enfermedades y promueven el crecimiento de las plantas (Weller *et al.*, 2002).

Actualmente se reportan alrededor de 191 especies del género *Pseudomonas*, se considera una bacteria con gran adaptabilidad, reproducción alta y coloniza una gran variedad de sustratos, por lo tanto, se ha utilizado para la elaboración de bioproductos (Soni *et al.*, 2021).

### **2.10.3. *Raoultella***

*Raoultella* spp. son bacilos Gram negativos de la familia Enterobacteriácea, es una bacteria inmóvil, aeróbica y encapsulada, se aíslan principalmente del entorno natural y se identifican mediante pruebas bioquímicas. Se conocen cuatro especies: *R. planticola*, *R. ornithinolytica*, *R. terrígena* y *R. eléctrica*, pertenecen al grupo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal. Son fijadoras de nitrógeno, productoras de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal y sideróforos (Carcaño-Montiel *et al.*, 2006). El orden Enterobacterales se dividió en siete familias, incluida la familia Enterobacteriácea en 2016. El género *Klebsiella* dentro de la familia Enterobacteriaceae se dividió en dos géneros *Klebsiella* y *Raoultella* en 2001 (Ma *et al.*, 2021). El análisis filogenómico muestra que el género *Raoultella* está anidado dentro del género *Klebsiella*, juntas son monofiléticas y comparten identidades de aminoácidos (AAI) promedio de 86,9-89,6% por encima del umbral de AAI (86%), también comparten componentes de inserción o deleción de firma conservados conocidos. Por lo tanto, se reunificó en el género único *Klebsiella* y se reclasificaron las especies de *Raoultella* como *Klebsiella eléctrica*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella ornithinolytica* y *Klebsiella terrígena* (Sekowska, 2019).

### **2.11. Cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*)**

El cultivo y consumo del brócoli data de la época del Imperio Romano. El incremento significativo de su producción a nivel mundial se ha realizado recientemente durante los últimos años, con base en el conocimiento de su calidad nutritiva y organoléptica. El brócoli, cuyo

nombre científico es *Brassica oleracea* var. *italica*, pertenece a la familia Brassicaceae, también conocida como la familia de las crucíferas, esta familia incluye otras hortalizas comunes como la col, el repollo, la coliflor y las coles de Bruselas (Zamora, 2016).

El brócoli tiene su origen en el Mediterráneo, específicamente en la región de Italia, de ahí su nombre var. *italica*. Se cree que fue cultivado por primera vez hace más de 2000 años en la época de los romanos. Durante la Edad Media, el brócoli fue cultivado ampliamente en toda Europa, especialmente en Italia, donde se le consideraba un alimento valioso, fue introducido en Inglaterra a finales del siglo XVII, aunque no fue hasta el siglo XVIII que comenzó a ser reconocido y cultivado más ampliamente en el resto de Europa, su introducción a América del Norte ocurrió más tarde, alrededor del siglo XX, pero desde entonces se ha convertido en una hortaliza importante en muchos países del mundo (Rodríguez-Ortiz *et al.*, 2021).

El brócoli es conocido por su rico contenido nutricional; es una fuente excepcionalmente rica de vitaminas A, C y K, y proporciona una buena cantidad de fibra y proteínas en comparación con otras hortalizas. Es una fuente importante de fitonutrientes, incluyendo compuestos de azufre que han demostrado tener propiedades anticancerígenas. Su adaptabilidad a diferentes climas y suelos ha permitido que el brócoli se cultive en muchas regiones del mundo, se cultiva principalmente en climas templados y se prefiere en las estaciones más frescas del año, sin embargo, con las variedades adecuadas y el manejo del cultivo, también puede crecer en regiones más calurosas. La versatilidad del brócoli, junto con su valor nutricional, ha contribuido a su popularidad y a su importancia en la agricultura global (Escobosa-García *et al.*, 2022). Para el cultivo de brócoli se recomienda un suelo con buen drenaje, aunque puede desarrollarse en suelos con diferentes texturas, sin embargo, es necesario preparar adecuadamente el terreno, crece adecuadamente en un rango de pH de 6 a 7, es tolerante a ambientes salinos, con conductividad eléctrica de 2.8 dS/m (Zamora, 2016). Los climas fríos son los adecuados para el desarrollo favorable del brócoli, de tal manera que en la temporada otoño-invierno la producción de esta hortaliza se adapta mejor dentro de un rango de entre 15 y 25 °C (Santoyo & Martínez, 2011).

### **2.11.1. Establecimiento de cultivo**

La primera fase del establecimiento del cultivo comienza con la producción de la plántula, que se obtiene en invernadero, en donde se utiliza sustrato comercial para el proceso de

germinación y crecimiento temprano de la plántula, estas plántulas se obtienen en charolas de poliestireno y 30 días después de la siembra, las plántulas (de 4 ó 5 hojas verdaderas) son trasplantadas a el campo, preferentemente en el suelo húmedo para evitar estrés a las plántulas. Las plántulas se deben sembrar a una distancia de 30 a 35 cm entre hileras de 0.90 a 1.2 m y pueden establecerse a una y a doble hilera en zig-zag (Santoyo & Martínez, 2011).

### **2.11.2. Riego**

El cultivo de brócoli requiere altas cantidades de agua de riego para conseguir una producción óptima, debe ser ligero y frecuente, tiene que disponer siempre de humedad, debido a que un desbalance en la humedad ocasiona maduración prematura de las cabezas. Bajo condiciones muy secas es necesario incrementar el aporte hídrico para satisfacer las necesidades del cultivo. El mayor requerimiento hídrico es a partir del inicio de la formación de la cabeza y durante la cosecha (Risco *et al.*, 2018).

### **2.11.3. Fertilización y nutrición**

La fertilización es fundamental para el desarrollo del cultivo, esta se debe llevar a cabo adecuadamente, es importante conocer las necesidades nutricionales del cultivo y las propiedades del suelo. En el caso del brócoli, este requiere por hectárea la fórmula 220-40-00 (NPK). La dosificación del fertilizante se realiza aplicando la cantidad, proporción y forma química requerida de acuerdo con la etapa de desarrollo, ritmo de crecimiento y acumulación de materia seca, para lograr altos rendimientos. Entre las principales fuentes de nutrientes para el cultivo de brócoli se encuentra el nitrógeno ya que es base para el desarrollo de hojas y tallo, el fósforo y el potasio actúan sobre la raíz para una mayor productividad, los micronutrientes como el calcio, el boro, azufre, molibdeno, magnesio, manganeso y zinc trabajan en conjunto con los macronutrientes para impulsar el crecimiento, aumentar la tolerancia a estrés y obtener mayores rendimientos (Zamora, 2016).

La hortaliza se puede cosechar una vez que la inflorescencia haya alcanzado su tamaño máximo sin abrirse, con grano fino y compacto (Gudiño *et al.*, 2022).

## 2.12. Producción de brócoli en la región central de México

En el ámbito global, México figura como el quinto productor de brócoli; en el ámbito nacional, Guanajuato, Puebla y Michoacán ocupan los tres primeros lugares como productores de brócoli, que en conjunto representan el 81 % de la producción nacional (Cuadro 1), (SIAP, 2018). Guanajuato produce alrededor del 64.2% siendo el mayor productor y el resto se divide entre el estado de Michoacán y Puebla, mientras que en Michoacán los principales municipios productores son Tangancícuaro, Chilchota, Zamora y Purépero (Raya-Montaño *et al.*, 2018). En Puebla de acuerdo con SAGARPA los municipios que destacan por su superficie cosechada son: Palmar de Bravo, Quecholac, Los Reyes de Juárez, Cuyuaco, Libres, Acatzingo y Tecamachalco, Puebla ocupa el tercer lugar a nivel nacional en valor de la producción de brócoli y el segundo en superficie sembrada y cosechada (Cuadro 1) (SIAP, 2018).

**Cuadro 1** Situación agrícola, año 2020 (diciembre), (SIAP) del cultivo de brócoli en los estados de mayor producción

Estado	Superficie (ha)		Producción (t)	Rendimiento (t ha <sup>-1</sup> )
	Sembrada	Cosechada	Obtenida	Obtenida
<b>Guanajuato</b>	24,234	24,155	408,897	16,928
<b>Michoacán</b>	357	352	7,487	21,281
<b>Puebla</b>	2,589	2,589	45,225	17,467

Ha: hectárea, t: tonelada.

## 2.13. Inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) en el cultivo de brócoli

Abd El-Fattah *et al.*, (2021), realizaron un estudio en donde investigaron el uso potencial de hongos micorrízicos y *Pseudomonas fluorescens* sobre la productividad y desarrollo de los cultivos de brócoli, se analizó la eficiencia del uso del agua bajo diferentes niveles de riego. Se realizaron dos experimentos en invernadero, se usaron diferentes combinaciones entre tres niveles de riego (50,75, 100%) y dos tipos de inóculos (hongos micorrízicos y *P. fluorescens*). La eficiencia en el uso de agua para disminuir el estrés hídrico, el crecimiento y rendimiento vegetal fueron algunos de los parámetros medidos en esta investigación, el mejor tratamiento se obtuvo a partir de las plantas inoculadas con endomicorrizas y *P. fluorescens* con riego aplicado

al 75% de humedad, se concluyó que esta combinación es óptima para aumentar la resistencia al estrés hídricos y en consecuencia se obtienen una mayor productividad en circunstancias de escasez de agua.

Ollio *et al.*, (2023) mencionan el efecto de los biofertilizantes sobre el rendimiento del brócoli y los indicadores de calidad del suelo con el uso de PGPR en biofertilizantes, se compara el papel de los inoculantes bacterianos frente a los fertilizantes inorgánicos en el cultivo. Se diseñaron cuatro tratamientos que incluyen: 1) Fertilizante inorgánico que cubre las necesidades nutritivas del cultivo al 100% (F100), 2) Fertilización al 50% (F50), 3) fertilización al 50% y bacterias (F50+BA), 4) Formulación de bacterias y hongos no micorrízicos (BA+ FU), a partir de estos tratamientos se determinó el impacto sobre los microorganismos en el suelo, el rendimiento del cultivo y las emisiones de gases de efecto invernadero. Se concluyó que los inóculos bacterianos no aumentaron la diversidad microbiana; sin embargo, ayudan a reducir la fertilización inorgánica.

Demir *et al.*, (2023) utilizaron biofertilizantes a base de bacterias promotoras del crecimiento vegetal y fertilizantes orgánicos para mejorar el crecimiento, el rendimiento y la concentración mineral en lechuga y brócoli en condiciones de invernadero, para disminuir el uso de fertilizantes químicos. En la investigación utilizaron 6 tratamientos que incluyeron: T1) biofertilizante (BF), T2) fertilizante químico + biofertilizante (FQ + BF), T3) fertilizante químico (FQ), T4) media dosis de fertilizante químico + biofertilizante (BF + FQ1/2), T5) un tercio de la dosis de fertilizante químico + biofertilizante (BF + FQ1/3), T6) fertilizante orgánico + biofertilizante (FO + BF). El biofertilizante comercial BM-MegaFLu contiene las bacterias *B. megaterium*, *P. fluorescens*, *Pantoea agglomerans* con un contenido viable total de  $1 \times 10^{-7}$  UFC mL<sup>-1</sup>. Como fertilizante orgánico, se utilizó Biofarm con un 50% de materia orgánica, 2% de N, 2% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 10% de ácidos húmicos y fúlvicos, un contenido de humedad del 20% y un pH de 6.8-8.8. En el cultivo de brócoli, el tratamiento FQ+BF presentó un efecto positivo en el desarrollo de la planta y el rendimiento del cultivo; la concentración de los tratamientos que presentaron un mayor porcentaje de minerales fue FQ+BF, FQ ½ dosis+BF y FO+BF.

Borboa y Colaboradores (2016) evaluaron el efecto de bacterias promotoras del crecimiento vegetal con propiedades halotolerantes en cultivo de brócoli en los híbridos

Marathon, Heritage y Avenger. Se utilizaron cuatro tratamientos para cada híbrido: 1) *Azospirillum halopraeferens* (A.h), 2) *Bacillus amiloliquefasciens* (B.a), 3) A.h + B.a, 4) testigo-control fertilización regional a base de NPK, obteniendo un total de 12 tratamientos. Las variables evaluadas fueron el porcentaje de cabezas cosechadas a los 83 días, el diámetro de la cabeza, el rendimiento del cultivo en toneladas métricas (TM ha<sup>-1</sup>) y la cantidad de N y P presentes. En general, los mejores resultados se obtuvieron a partir de los tratamientos inoculados con ambas bacterias; sin embargo, el cultivo híbrido Avenger presentó mayores resultados, siguiendo en segundo orden por Marathon y Heritage (Borboa *et al.*, 2016).

Cruz Romero *et al.*, (2016) propusieron biotecnologías para la producción sustentable de almácigos de hortalizas, evaluando diversas alternativas para la producción de brócoli (*Brassica oleracea* var. *Itálica*), cebolla (*Allium cepa* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.), mediante la inoculación con cepas 7A y AMRp10 de *Azospirillum brasilense* de la colección de Microbiología de suelos ICUAP BUAP y la aspersion foliar de miel de abeja 2% (AFMA). Se evaluaron diferentes parámetros como la altura, el área foliar, contenido de clorofila en unidades SPAD, diámetro del tallo y el peso seco. Los tratamientos que se utilizaron para cada cultivo fueron: 1) *Azospirillum brasilense* 7A (A. A7), 2) *Azospirillum brasilense* AMRp10 (A. AMRp10), 4) miel de abeja 2% (AFMA) 5) Testigo. Para el cultivo de brócoli, la aspersion foliar con miel de abeja y la inoculación con *A. brasilense* 7A presentaron valores superiores.

Acurio y colaboradores (2020), evaluaron a *Bacillus* spp. como promotor del crecimiento vegetal en hortalizas como una alternativa para reducir el uso de fertilizantes químicos. Se seleccionaron las mejores cepas de *Bacillus* capaces de solubilizar fosfatos, fijar nitrógeno y producir ácido indol acético (AIA), se obtuvieron 2 cepas y se implementaron 5 tratamientos para realizar el ensayo, consistió en; T1: cepa 1 con una sola aplicación, T2: cepa 1 (IB10 *B. licheniformis*) con aplicación semanal: T3: cepa 2 (CT11 *B. megaterium*) con una sola aplicación, T4: cepa 2 con aplicación semanal, T5: testigo. Se obtuvo que la aplicación semanal de IB10 y CT11 aumentó la altura, el grosor, la materia seca, la longitud y el peso de la raíz en el cultivo de brócoli.

## 2.14. Bioestimulación

### 3.

La bioestimulación vegetal es el proceso que promueve el desarrollo y crecimiento vegetal. Los bioestimulantes se definen como sustancias orgánicas, compuestas por microorganismos o sustancias de origen natural, que actúan como activadores naturales para las plantas, estimulan los procesos naturales para mejorar la eficiencia y absorción de nutrientes, tolerancia al estrés biótico y abiótico, y optimizan la respuesta agronómica y fisiológica de los cultivos (Zapata-García *et al.*, 2020; Lucio *et al.*, 2020). Los bioestimulantes vegetales se clasifican en los siguientes grupos:

Ácidos húmicos y fúlvicos: son compuestos heterogéneos, producto final de la degradación de la materia orgánica, mejoran la disponibilidad de nutrientes, reducen la movilidad de iones metálicos tóxicos, aumentan la cantidad de clorofila, favorecen la elongación de las raíces e incrementan la biomasa radicular y promueven el desarrollo de microorganismos benéficos (Cabrefiga & Boix, 2024).

Hidrolizados de proteínas; son una mezcla de polipéptidos, oligopéptidos y aminoácidos, se obtienen a partir de la degradación química y enzimática de subproductos agroindustriales, fortalecen la resistencia frente al estrés oxidativo y estrés abiótico, son reguladores del crecimiento vegetal, incrementan el rendimiento de los cultivos y la actividad microbiana, mejora la movilidad y solubilidad de micronutrientes y regulan las enzimas implicadas en el metabolismo del nitrógeno (Naikoo *et al.*, 2025).

Extractos de algas marinas y botánicas: extractos de macroalgas, microalgas de agua dulce y salada. Contienen macro y micronutrientes, vitaminas, aminoácidos, citoquininas, incrementan la retención de agua, mejoran la cantidad de carbono, la textura, agregación y aireación del suelo y estimulan el crecimiento de las raíces (Rivera *et al.*, 2023).

Quitosano y otros biopolímeros: se producen a partir de fuentes naturales o químicas, inducen la actividad de genes responsables de la fotosíntesis, mecanismos de transducción de las hormonas vegetales y potencian la tolerancia frente a la salinidad y sequía (Bhupenchandra *et al.*, 2020).

Compuestos inorgánicos: elementos químicos como silicio, cobalto, sodio, selenio y lantano. Fortalecen las paredes celulares, aumentan el rendimiento y calidad de los cultivos, refuerzan los mecanismos de defensa al estrés abiótico y promueven el crecimiento vegetal (Cabrefiga & Boix, 2024, Rivera *et al.*, 2023).

Microorganismos benéficos: bacterias promotoras del crecimiento vegetal, hongos micorrízicos, fijan, solubilizan y movilizan los nutrientes, mejoran las propiedades físicas del suelo, mejoran la tolerancia al estrés abiótico y biótico (Naikoo *et al.*, 2025).

### **3.1. Enfermedades asociadas al cultivo de brócoli**

En México, el brócoli es uno de los cultivos de mayor importancia socioeconómica en la región centro del país; durante el verano, las condiciones cálidas y de alta humedad relativa favorecen la presencia de enfermedades que limitan la producción (Narro-Sánchez *et al.*, 2005). Las enfermedades causadas por hongos son un problema significativo para la producción de crucíferas en varias partes del mundo (Pattanamahakul y Strange, 1999), incluyendo México (Narro-Sánchez *et al.*, 2005). Entre los hongos que causan mayores daños al follaje o a la germinación de las semillas se encuentran: *A. brassicae*, *A. brassicicola*, *A. alternata*, *A. raphani*, *Fusarium oxysporum* ssp. *conglutinans* y *Phoma lingam* (Fraire-Cordero *et al.*, 2010).

#### **3.1.1. Pudrición del florete**

En el estado de Guanajuato, México, se reportó en el año 2022 como agentes causales de la pudrición del florete a *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* y *Fusarium verticillioides*. Se identificaron morfológicamente y molecularmente a partir de muestras de floretes con síntomas de pudrición (Arratia-Castro *et al.*, 2022). *A. alternata* es un hongo cosmopolita del orden *Pleosporales*, familia *Pleosporaceae* (Rivas, 2014), es patógeno y se desarrolla en ambientes con una alta humedad, lluvia abundante y temperaturas de 17 a 24 °C, dando lugar a la infección en los tejidos vegetales (Chávez & Chanchignia, 2022). En brócoli se manifiesta durante la cosecha y postcosecha, causando graves pérdidas, presenta síntomas como la pudrición en el florete, y en follaje ocasiona lesiones necróticas, pequeños círculos con el borde amarillo formando manchas

foliares (Arratia-Castro *et al.*, 2022). *Fusarium* es un hongo filamentoso de la familia *Hypocreaceae*, *F. oxysporum* y *F. verticillioides* son especies patógenas (Okungbowa & Shittu, 2012). Causan principalmente marchitez, amarillamiento en hojas, defoliación y la muerte eventualmente; se les atribuyen los agentes causales de la pudrición de florete en brócoli (Arratia-Castro *et al.*, 2022).

### **3.1.2. Pudrición húmeda/ blanda**

La podredumbre blanda es causada por *Pectobacterium carotovorum*, es una bacteria Gram negativa capaz de sintetizar un complejo enzimático amplio que le permite degradar la pectina presente en tejidos vegetales se desarrolla principalmente en tallos y provoca un olor desagradable en los tejidos afectados (Cubero-Agüero *et al.*, 2021).

### **3.1.3. Pudrición negra**

La pudrición negra es una de las principales enfermedades que ataca a la familia Brassicaceae, se atribuye como agente causal a *Xanthomonas campestris pv. campestris* es una bacteria Gram negativa y es un patógeno vascular. Los síntomas que presenta en brócoli son una forma irregular en los márgenes de las hojas, se expande desde el margen hacia los nervios de las hojas, toma una forma de V, borde amarillo, la zona central es marrón y de aspecto seco; si la infección es sistemática, las hojas superiores y las inflorescencias se ven afectadas. Las condiciones óptimas para el desarrollo de la enfermedad son temperaturas de 20° a 28°C y con una humedad alta (Lema Margarita *et al.*, 2009).

### **3.1.4. Hernia o potra**

Esta enfermedad se caracteriza por el abultamiento o protuberancias en raíces, en consecuencia, la absorción de agua y nutrientes es limitada provocando marchitamiento, retraso en el crecimiento y maduración; el agente causal: es *Plasmodiophora brassicae*, es un parásito obligado que se transmite por el suelo, se caracteriza por su ciclo de vida que consta de tres etapas, que incluye su supervivencia en el suelo, la infección de pelos radicales y la infección

cortical. Si la infección es grave, la calidad del futo es baja y las pérdidas son altas (Kageyama & Asano, 2009).

#### **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En Puebla la producción de brócoli es una fuente económica para varias familias de campesinos, no obstante, el cultivo está expuesto a plagas y enfermedades que disminuyen el rendimiento de la producción. Aunado a esto, el uso excesivo de fertilizantes y pesticidas químicos conlleva a los campesinos no solo a mayores costos de producción, sino que afecta directamente al suelo que es la principal fuente de trabajo, a la salud de los campesinos y al medio ambiente.

Se busca implementar biotecnologías a través de la aplicación de bacterias benéficas y bioestimulantes complementando la nutrición del cultivo de brócoli con el objetivo de obtener una mayor producción, mejores rendimientos, menores costos e impacto ambiental y seguridad alimentaria para el agricultor y el consumidor.

## **5. JUSTIFICACIÓN**

Se busca reducir el uso de fertilizantes químicos en la producción de alimentos, ya que pueden dañar el medio ambiente y representan un gasto considerable para los agricultores. Una estrategia sostenible y eficiente consiste en la aplicación de bioproductos basados en bacterias tipo PGPR. Estas bacterias mejoran la nutrición del cultivo al facilitar procesos clave como la fijación biológica de nitrógeno y la solubilización de fosfatos, aumentando la disponibilidad de nutrientes esenciales en la rizosfera. Su efecto se complementa con la aplicación foliar de ácidos húmicos, ácidos orgánicos y una mezcla de nutrientes que fortalecen las plantas, lo cual contribuye a una mayor eficiencia nutricional, mejora el rendimiento de los cultivos y promueve prácticas agrícolas más sostenibles y rentables.

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal y bioestimulantes en el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) para obtener una mayor producción a bajos costos con menor impacto ambiental.

### **6.2. Objetivo particular**

1. Determinar la sanidad de las semillas de brócoli y cuantificar el porcentaje de germinación y presencia de patógenos en las semillas.
2. Inocular las semillas de brócoli con bacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfatos y productoras de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal.
3. Evaluar en invernadero las etapas fenológicas de la planta del brócoli inoculadas, considerando la altura, masa de raíz, masa fresca del follaje, y la masa de inflorescencia con la adición de bioestimulantes.
4. Evaluar en condiciones de campo el desarrollo del cultivo de brócoli, mediante el análisis de parámetros fenológicos (altura de planta, número de hojas, biomasa radicular, masa fresca del follaje y de la inflorescencia), con la implementación de bioestimulantes.

## **7. HIPÓTESIS**

Los tratamientos con bacterias promotoras del crecimiento vegetal y la bioestimulación favorecerán el crecimiento y desarrollo del cultivo del brócoli.

## **8. MATERIALES Y MÉTODOS**

Este trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología de suelos de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y se desglosó en 3 fases: Fase de laboratorio y fase de invernadero y fase de campo

### **8.1. Material biológico: selección de semillas**

En este trabajo de investigación se utilizaron semillas certificadas de brócoli (*Brassica oleracea* variedad itálica híbrido Imperial comercializado por la empresa SAKATA®).

### **8.2. Fase de laboratorio**

Se desarrollaron actividades orientadas al manejo del material biológico bajo condiciones controladas, en áreas estériles y bajo protocolos de bioseguridad, para evitar contaminación cruzada y garantizar la confiabilidad e integridad de los resultados

#### **8.2.1. Análisis de suelo**

Se recolectaron submuestras de suelo en forma de zigzag, se mezclaron las muestras para obtener una mezcla compuesta, se almacenó en refrigeración a 4°C, hasta su análisis físico, químico y microbiológico.

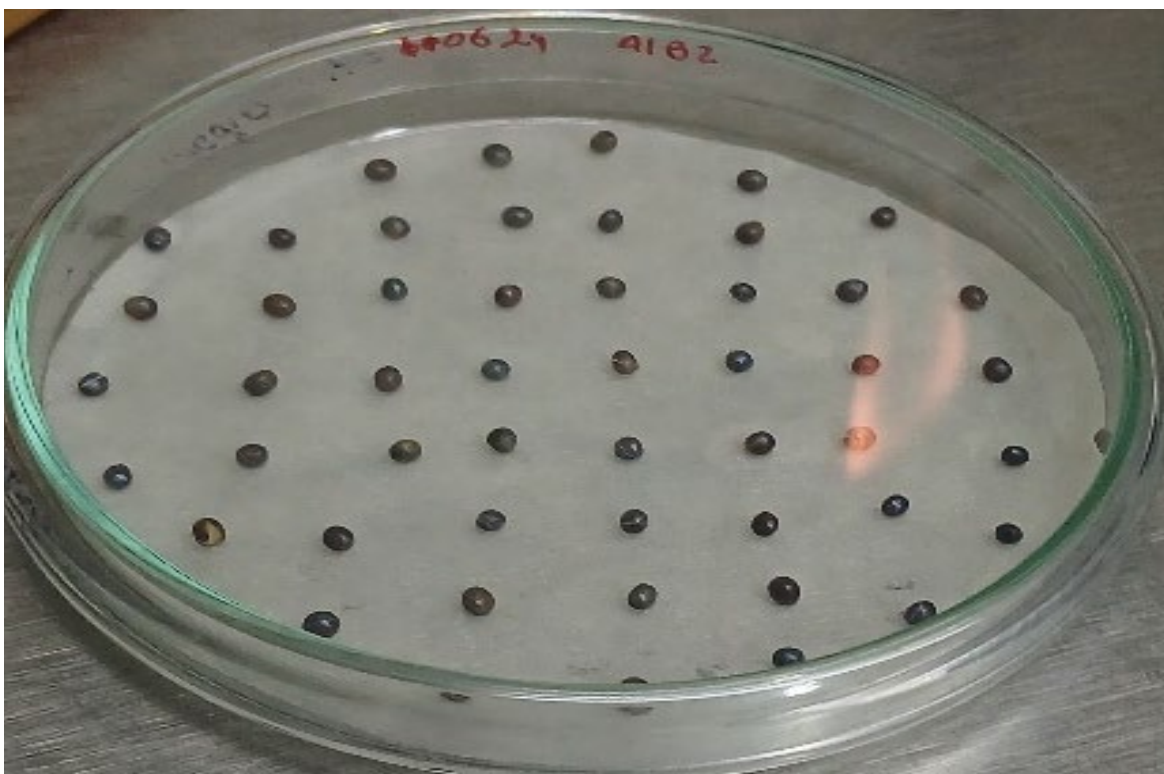
Para el análisis microbiológico se realizó un conteo en placa para cuantificar la población bacteriana y fúngica del suelo. En condiciones de esterilidad se pesó un gramo de la muestra compuesta de suelo y se llevaron a cabo diluciones seriadas con agua destilada estéril. Se sembraron alícuotas de 100 µL en medios de cultivo para bacterias mesofílicas aeróbicas (agar de Soya y Trypticaseína), actinomicetos (agar Czapeck-Dox), para hongos (agar de Papa-Dextrosa con antibiótico). Los resultados se reportan en Unidades Formadoras de Colonias por gramo de suelo (UFCg<sup>-1</sup>)

#### **8.2.2. Pruebas de germinación y sanidad en las semillas de brócoli**

La prueba de germinación y sanidad de la semilla de brócoli se realizó en condiciones de esterilidad; primero se llevan a cabo lavados a la semilla, los cuales consisten en un lavado de hipoclorito de sodio (NaClO) al 3% durante 5 minutos, seguido de un lavado con una solución

de fosfatos 0.1 M durante 5 minutos y tres lavados con H<sub>2</sub>O destilada estéril, se dejan reposar por 10 minutos, se colocan en papel absorbente estéril sobre una placa Petri de vidrio estéril (Figura 2) y se agregan 10 mL de H<sub>2</sub>O estéril. Las semillas se mantuvieron a mantuvieron a 25±2 °C y en oscuridad por cinco días. Se calculó el porcentaje de germinación a los 10 días, se utilizó la fórmula: Porcentaje de germinación = [(N° semillas germinadas) / (N° semillas sembradas)] x 100 (Caroca et al., 2016). También se realizó un conteo de semillas que presentaron alguna infección fúngica desde el momento de la germinación y los tipos de síntomas que se presentaron durante la germinación (Hernández-Hernández, 2023).

Al detectar infección fúngica, en condiciones de esterilidad se extrajeron las semillas que presentaron signos de infección y se colocaron en agar de papa dextrosa (PDA). Cuando se presentó crecimiento de los hongos en placa, se aislaron los hongos presentes y se realizaron micro cultivos para su identificación.



**Figura 1.** Prueba de germinación y sanidad de semillas en placa Petri

### 8.2.3. Selección de bacterias

Los microorganismos con los que se trabajó forman parte del cepario del Laboratorio de Microbiología de suelos “Dr. Jesús Caballero Mellado” del Centro de Investigaciones Microbiológicas del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Se utilizó un total de cinco bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Bacterias seleccionadas para la nutrición de *Brassica oleracea* var. *Italica*

Cepas	Clave	Características
<i>Azospirillum brasilense</i>	UAP-151	Fijadoras de nitrógeno, productoras de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal.
<i>Azospirillum brasilense</i>	UAP-154	Fijadoras de nitrógeno, productoras de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal.
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	BUAP- AM55	Solubilizadoras de fosfato.
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	BUAP-P16	Solubilizadoras de fosfato.
<i>Raoultella planticola</i>	KMT10	Fijadoras de nitrógeno y productoras de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal.

Bacterias seleccionadas del banco de cepas del laboratorio de Microbiología de Suelos “Jesús Caballero” del Instituto de Ciencias BUAP.

### 7.2.4. Preparación de inóculos bacterianos

Se seleccionaron bacterias fijadoras de nitrógeno del género *Azospirillum brasilense*; para su propagación, se utilizó el medio NFB, en el cual se inocularon las cepas *A. brasilense* UAP-151 y UAP-154, se incubaron a 32°C y a 180 rpm durante 48 h.

Se seleccionaron bacterias solubilizadoras de fosfatos del género *Pseudomonas fluorescens*, se propagaron en medio caldo soya tripticaseína, se inocularon las cepas *P. fluorescens* (BUAP-AM55 y BUAP-P16), se incubaron a 32°C y a 180 rpm durante 24 h.

Se seleccionó una bacteria promotora del crecimiento vegetal de la especie *Raoultella planticola*., La cepa KMT10 se propagó en medio caldo de soya triptocaseína, se incubó a 32°C y a 180 rpm durante 24 h.

La población bacteriana equivalente aplicada en cada tratamiento se muestra en el siguiente cuadro (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Población bacteriana utilizada en cada tratamiento

Tratamiento	Aplicación de inóculos en UFC mL <sup>-1</sup>					
	Inoculación	Re-inoculación	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3	Etapa 4
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	9x10 <sup>6</sup>	10x10 <sup>7</sup>	4.7x10 <sup>7</sup>	4.7x10 <sup>7</sup>	5x10 <sup>7</sup>	1.8x10 <sup>7</sup>
<i>P. fluorescens</i> (BUAP-AM55 y BUAP -P16)	40x10 <sup>6</sup>	30x10 <sup>7</sup>	6x10 <sup>7</sup>	6x10 <sup>7</sup>	30x10 <sup>7</sup>	30x10 <sup>7</sup>
<i>R. planticola</i> KMT10	30x10 <sup>6</sup>	x10 <sup>7</sup>	4.6x10 <sup>7</sup>	4.6x10 <sup>7</sup>	9.5x10 <sup>7</sup>	7x10 <sup>7</sup>

UFC: Unidad formadora de Colonias. Etapa 1: crecimiento vegetativo; etapa 2: inducción de la inflorescencia; etapa 3: formación del florete; etapa 4: maduración del florete.

### 8.3. Fase de invernadero

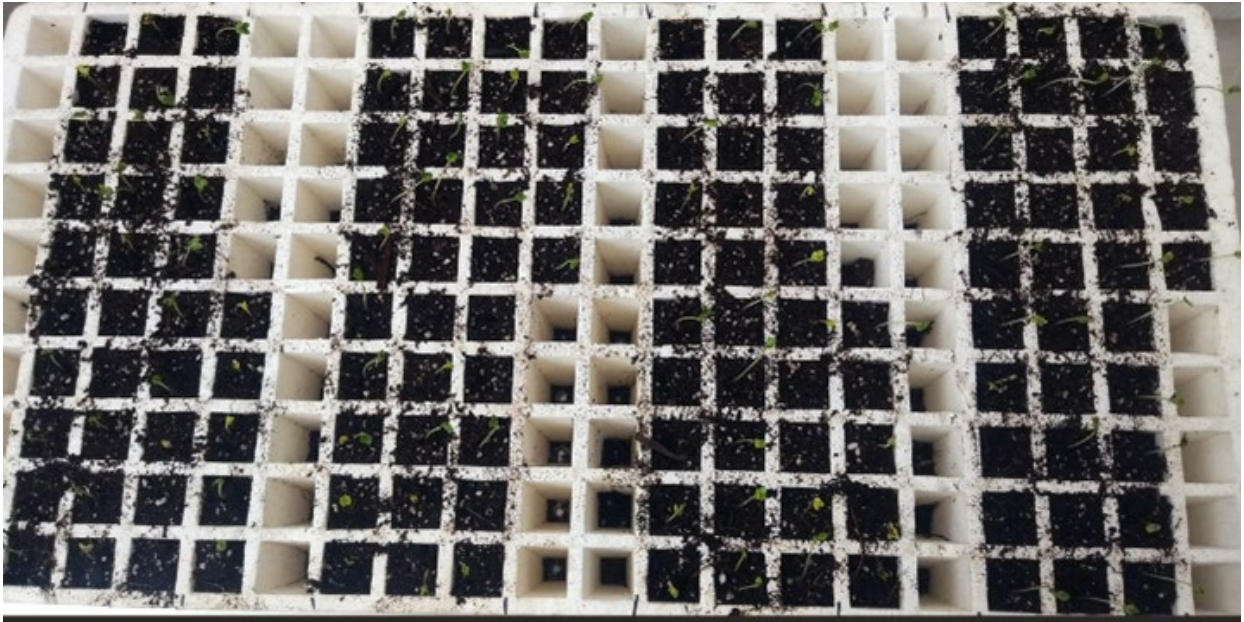
Se llevó a cabo el desarrollo de plántulas de brócoli bajo condiciones controladas, garantizando un crecimiento uniforme. Asimismo, se realizó un ensayo en invernadero para evaluar el comportamiento fisiológico y agronómico de las plantas de brócoli.

#### 8.3.1. Preparación de semillas inoculadas

Se inocularon 300 semillas de brócoli; de las cuales 60 semillas se sumergieron en caldo de Soya Triptocaseína (testigo), en los tratamientos inoculados con cepas bacterianas de *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154), *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16), *R. planticola* KMT10 se inocularon las semillas con 10 ml del inóculo; la población equivalente para cada tratamiento se menciona en el cuadro 3. En el tratamiento con mezcla bacteriana se preparó una proporción con 5 ml de cada uno de los inóculos; las semillas se mantuvieron en inmersión con los inóculos durante 30 minutos, e inmediatamente después de la inoculación se sembraron en charolas de germinación.

#### 8.3.2. Preparación de charolas de germinación

Se utilizaron charolas de germinación de 200 pozos, se esterilizó el sustrato para germinación (peat moss, agrolita, vermiculita y composta) a 121°C durante 30 minutos. Se agregó el sustrato en las charolas y se humedeció, se sembraron las semillas; el tiempo de germinación fue de 10 días aproximadamente, se mantuvieron en las charolas de germinación durante 30 días con un riego constante (Figura 2).



**Figura 2.** Germinación de semillas de *Brassica oleracea* var. *italica*.

### **8.3.3. Experimento de invernadero**

Se pesaron 5 kg de suelo procedente de San Cristóbal Los Nava, Municipio de Tepeaca y se agregaron en macetas de 5L, 30 días después de la siembra de plántulas de brócoli en charolas de germinación se realizó el trasplante. Previo al trasplante se llevó a cabo una re-inoculación, (Cuadro 3). Se trasplantaron 5 plántulas por cada tratamiento, en total se obtuvieron 50 macetas, en el tratamiento control no hubo re-inoculación (Figura 3), se mantuvieron con un riego constante durante 4 meses.

La aplicación de tratamientos en el ensayo de invernadero se efectuó durante las mismas etapas que en el ensayo en campo; sin embargo, la aplicación de fertilizante químico fue distinta. En este caso la mezcla del fertilizante químico se diluyó en agua destilada y se aplicaron 20 mL a las correspondientes al tratamiento con el 100 % de fertilizante y 10 mL a las plantas bajo el tratamiento del 50%.

Las plantas fueron evaluadas a los 90 días después de la siembra, registrándose los parámetros de altura, longitud y diámetro del tallo, masa fresca de raíz y follaje.



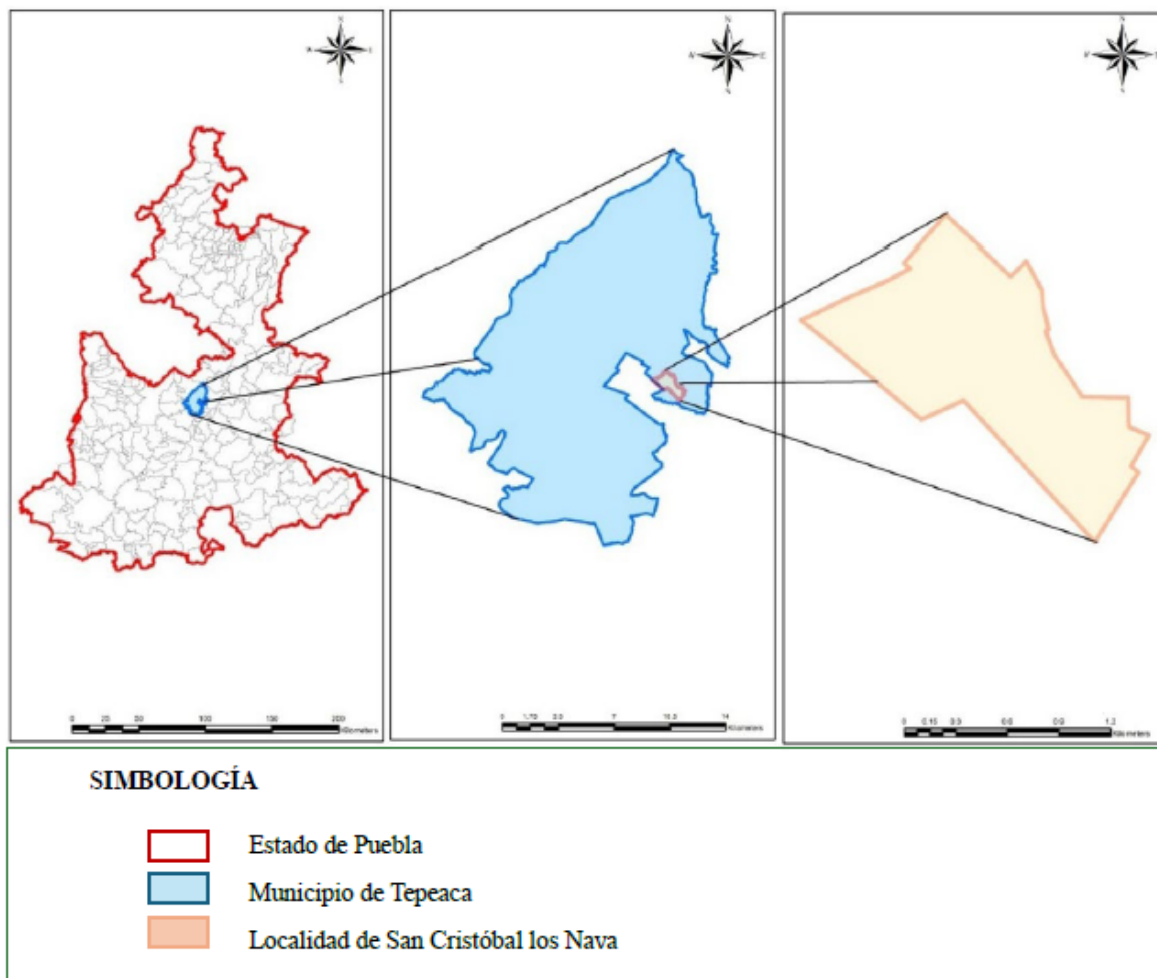
**Figura 3.** Experimento en invernadero.

#### **8.4. Fase de campo**

Se evaluó el desempeño agronómico bajo condiciones reales de producción, mediante la implementación de un ensayo en campo, que permitió analizar la respuesta del cultivo frente a los tratamientos aplicados.

##### **7.4.1. Localización del área experimental**

El experimento de campo se realizó en una parcela perteneciente al Municipio de Tepeaca, en el Estado de Puebla; en la localidad de San Cristóbal los Nava, este municipio se encuentra a una altitud promedio de 2235 metros sobre el nivel del mar. Sus coordenadas geográficas son los paralelos  $19^{\circ}00'10.5''$  de latitud norte y los meridianos  $97^{\circ}50'17.6''$  de longitud occidental. La parcela se encuentra ubicada en el polígono que corresponde a las coordenadas punto 1:  $19^{\circ}34'36.45''$  N,  $97^{\circ}39'11.76''$ O; punto 2:  $19^{\circ}34'36.86''$  N,  $97^{\circ}39'12.16''$  O; punto 3:  $19^{\circ}34'38.12''$  N,  $97^{\circ}39'1.62''$  O; punto 4:  $19^{\circ}34'37.67''$  N,  $97^{\circ}39'11.19''$  O (Figura 4).



**Figura 4.** Ubicación satelital de San Cristóbal los Nava

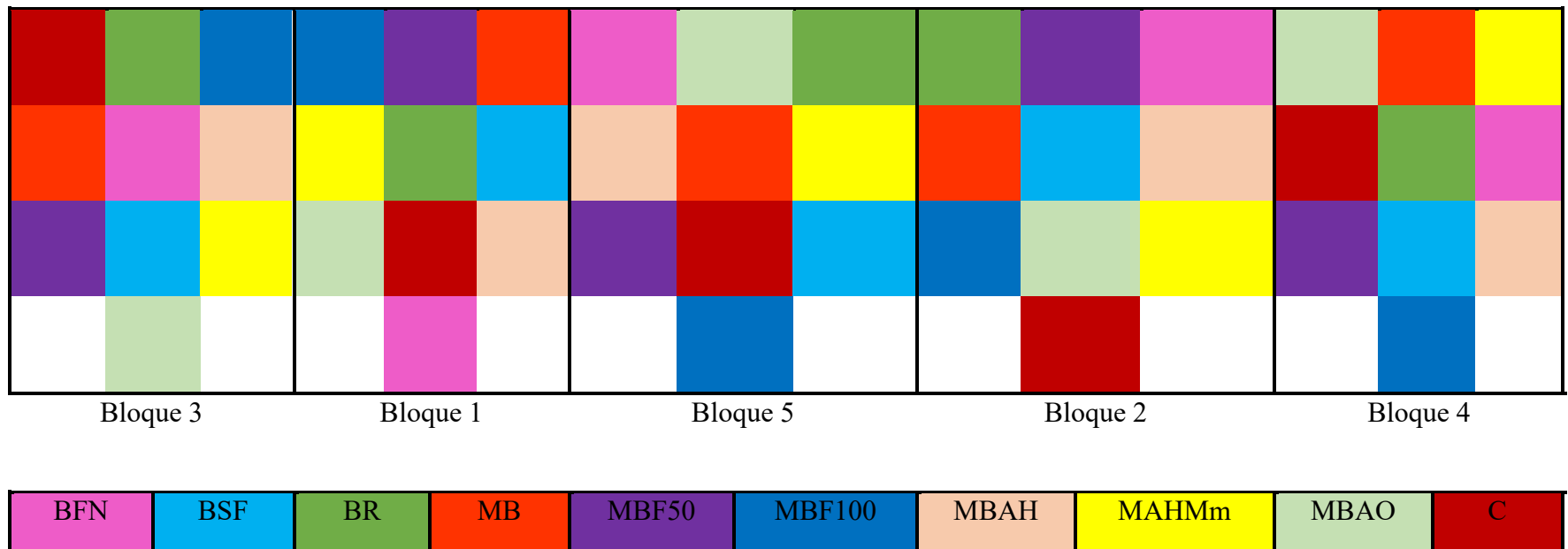
#### **7.4.2. Preparación del suelo para el experimento de campo**

Previamente se realizaron labranzas mínimas y conservación del suelo como el rastreo. De acuerdo con las fechas de la región, se estableció el experimento de campo el día 17 de marzo de 2024, el cual consistió en 10 tratamientos (Cuadro 4) con 5 repeticiones, delimitando cada parcela en 3 x 9 m (27 m<sup>2</sup>). Se hizo la preparación de surcos en el área de estudio, cada cuadrante se dividió en 3 surcos separados a 75 cm cada uno, y separación de 1.0 m entre cada cuadrante. Se utilizó el diseño de bloques completamente al azar y se sorteó cada cuadrante (tratamiento y repetición), en cada surco se depositó una plántula de brócoli, con una distancia de 30 cm entre las plantas de acuerdo con el tratamiento correspondiente (Figura 5).

**Cuadro 4.** Tratamientos aplicados en el cultivo de *Brassica oleracea* var. *Italica* en San Cristóbal los Nava, Tepeaca, Puebla.

Tratamiento	Clave
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	BFN
<i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	BSF
<i>R. planticola</i> KMT10	BR
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154) + <i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + <i>R. planticola</i> KMT10	MB
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154) + <i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + <i>R. planticola</i> KMT10 + 50% fertilizante	MBF50
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154) + <i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + <i>R. planticola</i> KMT10 + 100% fertilizante	MBF100
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154) + <i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + <i>R. planticola</i> KMT10 + ácidos húmicos	MBAH
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154) + <i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + <i>R. planticola</i> KMT10 + ácidos húmicos, macro y micronutrientes	MAHMm
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154) + <i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + <i>R. planticola</i> KMT10 + ácidos orgánicos	MBAO
Control	C

Tratamientos que se utilizaran en experimento de campo en el cultivo de brócoli en la comunidad San Cristóbal los Nava del municipio de Tepeaca



**Figura 5.** Diseño experimental en campo: **BFN:** *A. brasilense* UAP151 y UAP15, **BSF:** *P. fluorescens* BUAPAM55 y BUAPP16, **BR:** *R. planticola* KMT10, **MB:** *A. brasilense* + *P. fluorescens* + *R. planticola* KMT10, **MBF50:** MB+ fertilización al 50%, **MBF100:** MB + fertilización al 100%, **MBAH:** MB+ ácidos húmicos, **MAHMm:** MB+ ácidos húmicos y macro y micronutrientes, **MBAO:** MB+ ácidos orgánicos, **C:** control.

### 7.4.3. Siembra de brócoli en campo

Se eligieron 20 plántulas para cada tratamiento, antes del trasplante se reinocularon cada una de las plántulas de acuerdo con las condiciones experimentales, excepto el tratamiento control. La población equivalente de los ensayos de: *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154), *P. fluorescens* (BUAP-AM55 y BUAP-P16), *R. planticola* KMT10 se muestra en el cuadro 3. La mezcla bacteriana se compuso con 10 mL de cada inóculo bacteriano; inmediatamente después de la reapiación del inóculo, se trasplantaron cuatro plántulas por tratamiento en cada una de las parcelas (Figura 6).



Figura 6. Trasplante de brócoli en campo

### 7.4.4. Preparación de tratamientos para aplicación en campo

Para los tratamientos con fertilización química se aplicó la dosis que el productor aplica en el cultivo (236– 92-16-24; N, P, Mg, Ca) kg/ha; se preparó una mezcla de urea y fosfato diamónico. En el tratamiento con fertilización química al 100 % se aplicó por única vez directamente en el suelo 10 g de la mezcla y para el tratamiento de fertilización al 50% se agregaron 5 g de la mezcla por planta.

Se preparó una solución de ácidos húmicos conforme a las concentraciones recomendadas por el fabricante Alpha organic (5 L ha<sup>-1</sup>). Se elaboró una solución base en donde se diluyeron

25 ml del producto comercial en 1lt de agua, obteniendo así la solución utilizada en los tratamientos correspondientes.

Para los tratamientos que incluyeron la mezcla de ácidos húmicos y macro y micronutrientes, se utilizó Harvest More® 10-55-10 (macro y micronutrientes), cuya dosis recomendada por el fabricante es de 10-15 kg ha<sup>-1</sup>. Se preparó una solución de 20 g de Harvest More y 25 ml de Alpha humic en 1 litro de agua destilada.

En el tratamiento de ácidos orgánicos se empleó una mezcla de ácido málico, succínico y glutámico, proveniente de la marca I.A. Minerales del pacifico. De acuerdo con las indicaciones del fabricante, la dosis recomendada es de 2 kg ha<sup>-1</sup>. En este estudio, la solución se preparó disolviendo 20 g del producto en 1 litro de agua destilada.

Después de establecido el ensayo en campo, se aplicó el riego a los 15 días después de la siembra, la primera aplicación foliar de los tratamientos (cuadro 4) fue en la etapa la etapa de crecimiento vegetativo, la segunda aplicación se efectuó durante la fase de inducción de la inflorescencia; la tercera aplicación corresponde a la etapa de formación del florete; la cuarta aplicación maduración del florete.

Los fertilizantes químicos se aplicaron una sola vez durante la primera etapa del desarrollo del cultivo.

### **8.5. Análisis estadístico**

Se utilizó el programa Paquete de diseños experimentales de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, se realizó un análisis de varianza ANOVA, y una prueba de Tukey P=0.05 para comparar las medias (Olivares-Saenz, 1994).

## 9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 9.1. Análisis del suelo

El análisis físico y químico del suelo reporta un suelo franco arenoso, medianamente alcalino, con baja concentración de materia orgánica y nitrógeno total, con una concentración alta de Ca, Mg y P, y una concentración media de K, CIC alta, con base en la NOM 021-RECNAT-2000. De acuerdo con Zamora, el cultivo de brócoli se adapta a cualquier tipo de suelo, por lo que el suelo franco arenoso resulta adecuado para su cultivo, es un suelo que presenta una textura equilibrada y tiene un buen drenaje (SEMARNAT, 2024). El cultivo de brócoli crece en un rango de pH de 6-7; sin embargo, se determinó un pH de 8-8.5 (Cuadro 4) en donde los nutrientes como el S, K, Mg son más asimilables por parte de la planta, pero los nutrientes como el N, P, Ca, Fe, B presentan menor absorción (SAKATA, 2024).

**Cuadro 5.** Análisis físico y químico del suelo de la zona de estudio

Parámetro	Unidades	Valor	Interpretación	Método
pH		8.21	Medianamente alcalino	AS-02
M.O.	%	1.49	Bajo	AS-07
Nt	%	0.07	Bajo	AS-25
Arena: Limo: Arcilla	%	60:24:16	Franco arenoso	AS-09
K	cmol kg <sup>-1</sup>	0.54	Media	AS-12
Ca	cmol kg <sup>-1</sup>	22.80	Alta	AS-12
Mg	cmol kg <sup>-1</sup>	8.00	Alta	AS-12
Na	cmol kg <sup>-1</sup>	1.35	NA	AS-12
CIC	cmol kg <sup>-1</sup>	25.30	Alta	AS-13
P	cmol kg <sup>-1</sup>	46.49	Alto	AS-11
DA	g mL <sup>-1</sup>	1.13	Arcillosa	AS-03
CE	dS m <sup>-1</sup>	0.78	Despreciable	AS-18

Resultados con base en la NOM 021-RECNAT-2000: Nt: nitrógeno total, CIC: Capacidad de Intercambio Catiónico, DA: Densidad Aparente, CE: Conductividad Eléctrica. NA: No aplica.

El análisis microbiológico (Cuadro 6) evidencia la salud actual del suelo, se demuestra que la concentración de células bacterianas (mesófilas y actinomicetos) en la zona de estudio es moderadamente alta, de acuerdo con Cruz y colaboradores (2023), quienes mencionan que en un gramo de suelo se encuentran más de 10<sup>9</sup> células bacterianas, cuyas principales funciones en el suelo incluyen la estimulación vegetal y mejorar la estructura del suelo (Odewara *et al.*, 2024). En cuanto al número de hongos que se obtienen en la zona de estudio, está por debajo de la

cantidad ideal que debería estar presente. La importancia de los hongos recae en el rol que cumplen como descomponedores y mutualistas (Cruz *et al.*, 2023), y al mismo tiempo son reguladores del ecosistema, mejoran la estructura física del suelo, al formar simbiosis con la raíz de las plantas, de modo que expanden la superficie radicular y hay mayor acceso a los nutrientes y agua (Odewara *et al.*, 2024). No obstante, también se comportan como agentes patógenos y llegan a provocar pérdidas considerables del cultivo (Cruz *et al.*, 2023). Desde una perspectiva general, las poblaciones microbianas en el suelo se utilizan como un indicador de su salud y fertilidad (Devi, 2021).

**Cuadro 6.** Análisis microbiológico del suelo de la zona de estudio

Bacterias UFCg <sup>-1</sup>		Hongos UFCg <sup>-1</sup>
Mesófilas aeróbicas	Filamentosas (actinomicetos)	
5.5x10 <sup>6</sup>	2.3x10 <sup>5</sup>	6.8

UFC: Unidades Formadoras de Colonias, g: gramo

## 9.2. Porcentaje de germinación

El tratamiento de *P. fluorescens* (BUAP-AM55 y BUAP-P16) tuvo mayor influencia en el porcentaje de germinación con respecto al tratamiento control. (Cuadro 7, Figura 7).

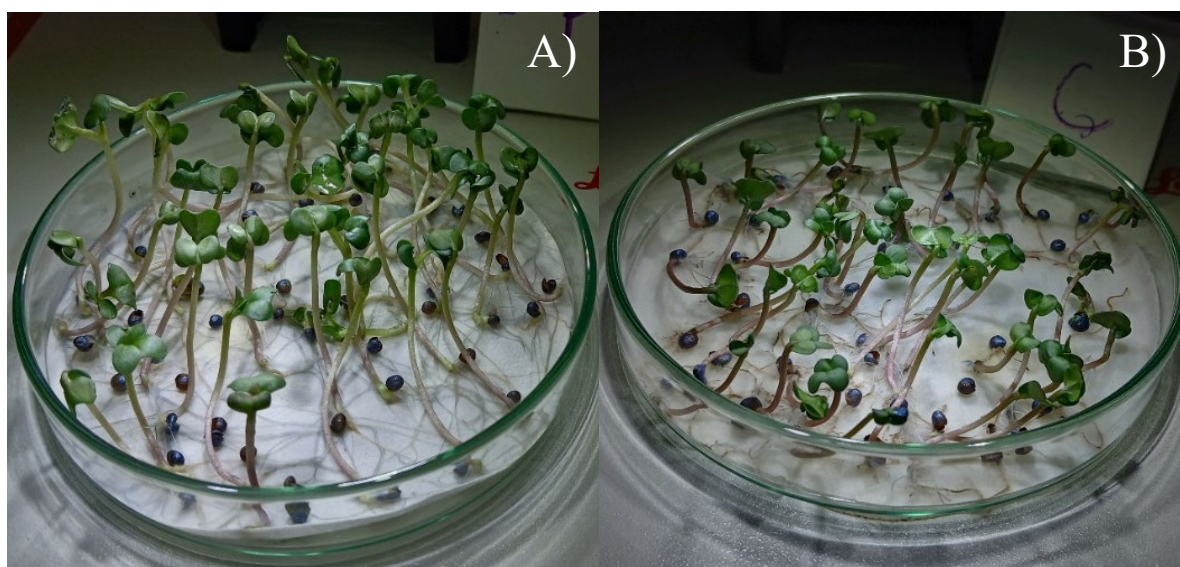
**Cuadro 7.** Porcentaje de germinación de las semillas de brócoli inoculadas.

Tratamientos	Porcentaje (%)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	91.0 ± 0.07 a
<i>Azospirillum brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	81.0 ± 2.82 ab
<i>Raoultella planticola</i> KMT10	81.0 ± 0.07 ab
<i>Azospirillum brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154) + <i>Pseudomonas fluorescens</i> (BUAP-AM55 y BUAP-P16) + <i>Raoultella planticola</i> KMT10	72.0 ± 2.12 b
Control	62.0 ± 4.95 c

Valores representan los promedios de 3 repeticiones por tratamiento, seguido de desviación estándar, las letras iguales no representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

En condiciones ambientales (agua, temperatura, oxígeno y luz), la germinación de las semillas se dificulta debido a los inhibidores presentes en la cubierta o membrana que contiene compuestos fenólicos inductores de latencia, misma que se convierte en una barrera física que limita el paso de agua y gases lo que provoca una germinación baja (Rodríguez *et al.*, 2019) y

facilita la colonización de fitopatógenos (Benítez *et al.*, 2013). Las formulaciones biológicas con PGPR contienen células bacterianas vivas que son incorporadas en la rizosfera a través de la inoculación (Mitra *et al.*, 2021) ayudan a la hidratación de las semillas y mejoran el proceso de movilización de nutrientes (Macías-Holguín *et al.*, 2023). Muchas bacterias, incluidas *Acinetobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus* y *Pseudomonas*, entre otras, se han explorado de manera efectiva, ya que liberan sustancias reguladoras del crecimiento vegetal (Qessaoui *et al.*, 2021; Widawati 2018). Las PGPR son capaces de estimular el crecimiento de las plantas a través de una variedad de mecanismos que mejoran la nutrición de las plantas, la producción y la regulación de fitohormonas. Los inoculantes bacterianos con PGPR contienen células microbianas vivas que son incorporadas en la rizosfera al momento de la siembra, son aptos para la hidratación de las semillas y favorecen el proceso de movilización de nutrientes (Chaudhary *et al.*, 2020; Raj *et al.*, 2021).

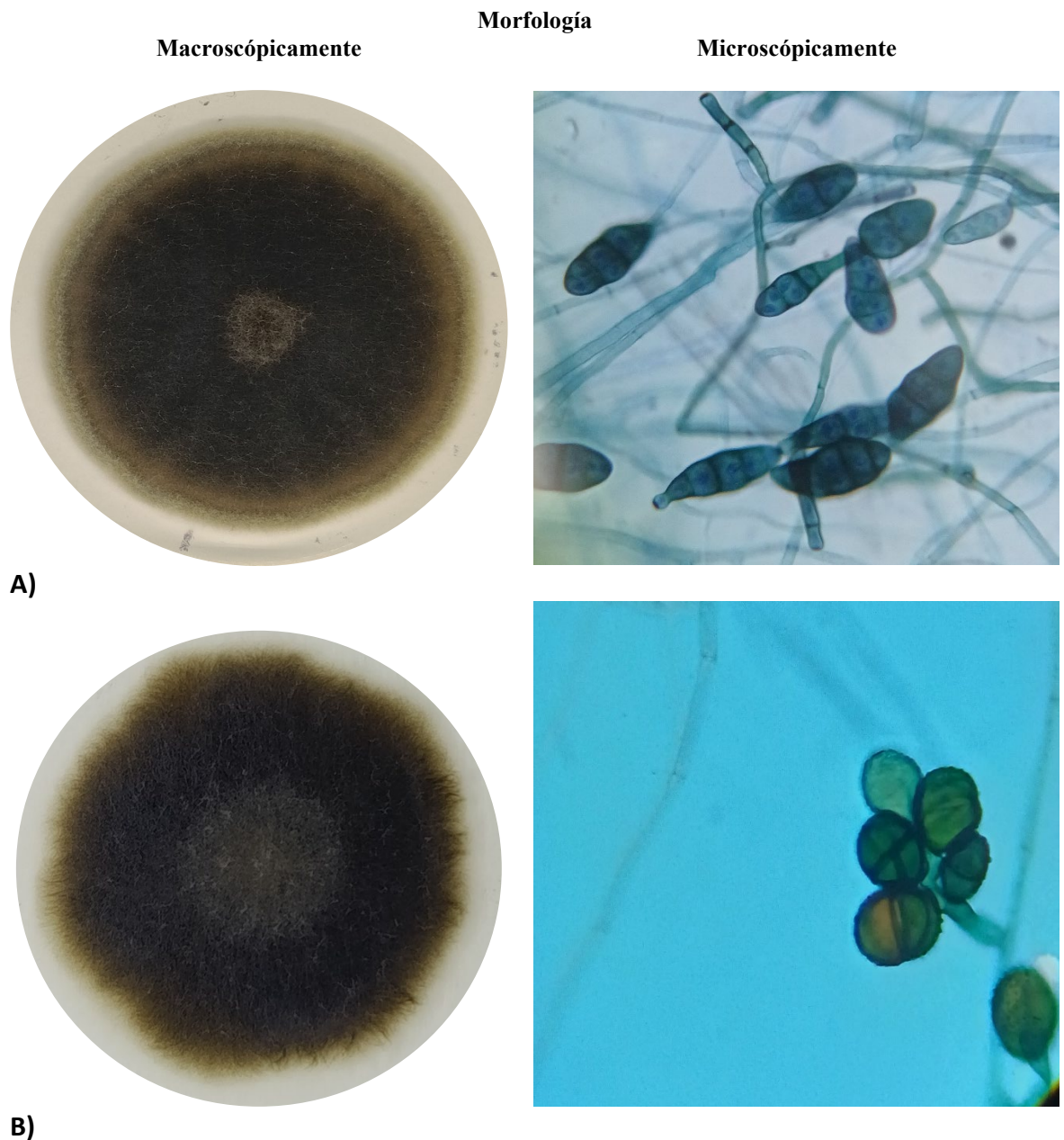


**Figura 7.** Germinación de semillas de brócoli *in vitro*. A) *P. fluorescens*, B) Control

### 8.2.1 Sanidad de semillas

De la prueba de sanidad de semillas se aislaron dos hongos (Figura 7). En las semillas se encontró *Alternaria* spp., se ha descrito como un agente patógeno en el cultivo de brócoli, se asocia a enfermedades como la mancha negra en brócoli, que produce pérdida en los rendimientos de producción provocando pérdidas económicas (Belmas *et al.*, 2018). En la raíz

de las plántulas de brócoli se determinó la presencia de *Ulocladium* spp., es considerado un hongo patógeno y saprofito, Abdelwehab (2014) menciona que se ha encontrado en semillas de vegetales importados del género *Eruca*, *Petroselinum*, *Cucumis* y *Beta*, afectan la viabilidad de semillas y están asociadas con los bajos niveles de germinación y emergencia de plántulas, además son la causa de enfermedades como lesión foliar, pudrición de semillas y mancha foliar.



**B)**  
**Figura 8.** Hongos asociados a la semilla y raíz de *Brassica oleracea* var *italica*: A) *Alternaria* spp., B) *Ulocladium* spp.

### 9.3. Evaluación de datos de invernadero

Se evaluaron los parámetros de altura y masa fresca de la planta de brócoli, longitud y diámetro del tallo y masa de la raíz. A los 90 días posteriores a la siembra en invernadero, se tomaron 5 repeticiones por tratamiento, obteniendo un total de 50 muestras evaluadas.

#### 9.3.1. Altura de plantas de brócoli

Al evaluar la altura (Cuadro 8) se obtuvo como mejor tratamiento la mezcla bacteriana (*A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154) + *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + *R. planticola* KMT10) + ácidos húmicos ( $p < 0.05$ ), con un incremento del 43% en el día 90 respecto al control. Se ha reportado que los ácidos húmicos presentan una actividad bioestimulante (Caballero *et al.*, 2022), ya que la aplicación foliar de ácidos húmicos actúa directamente sobre la fotosíntesis al aumentar los niveles de clorofila (de Moura *et al.*, 2023) y al mismo tiempo incrementan la actividad de la enzima  $H^+ATPasa$  en la membrana plasmática al estimular el gradiente electroquímico protónico para activar el transporte secundario de iones, en donde se liberan principalmente iones  $H^+$  en el apoplasto, que permiten la inducción al crecimiento de la raíz dando como resultado un mayor desarrollo y crecimiento vegetal (Tiwari *et al.*, 2023).

**Cuadro 8.** Efecto de la aplicación foliar de bioestimulante sobre la altura en las plantas de brócoli

Tratamientos	Altura (cm)		Incremento (%)
	Día 30	Día 90	
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos	27.80±1.64 a	33.40±3.28 a	43
Mezcla bacteriana + Fertilización 50%	25.00±2.91 ab	25.20±1.48 b	8
<i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	25.40±2.40 ab	26.40±2.40 b	13
Mezcla bacteriana	22.60±3.57 bc	25.20±2.58 b	8
<i>R. planticola</i> KMT10	22.80±0.83 bc	23.80±1.48 b	2
Mezcla bacteriana + Fertilización 100%	23.20±2.77 ab	25.80±1.48 b	10
Mezcla bacteriana + Ácidos Orgánicos	23.60±2.60 ab	24.80±2.58 b	6
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	23.00±1.41 ab	24.60±2.07 b	5
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos, macro y micronutrientes	20.40±1.34 b	24.60±1.51 b	5
Control	20.40±2.07 b	23.40±1.81b	---

Mezcla bacteriana: *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154) + *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + *R. planticola* KMT10. Valores promedio de 5 repeticiones por tratamiento seguido de desviación estándar, dentro de la misma columna, las letras iguales no representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). El incremento respecto al control se representa en %.

Rachid (2020) menciona que al aplicar ácidos húmicos en plantas de coliflor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) se observa un incremento en la altura del 30 % respecto al control. Por otro lado, de Silva (2021) menciona que existe una asociación entre ácidos húmicos y las PGPR, que se refleja en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Abdelaziz (2024) señala que al aplicar ácidos húmicos con microorganismos promotores del crecimiento vegetal como *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense*, *Saccharomyces cerevisiae* y micorrizas arbusculares observó un aumento significativo en el rendimiento y las tasas de crecimiento en plantas de trigo. La aplicación de PGPR como *P. fluorescens* presenta efectos positivos en el crecimiento vegetal, ya que aumenta la actividad fosfatasa y el contenido de clorofila en la planta, favoreciendo la disponibilidad de nutrientes (Gómez-Gallego *et al.*, 2024).

### 9.3.2. Diámetro y longitud del tallo en plantas de brócoli

En la evaluación del diámetro del tallo (Cuadro 9) se encontró un incremento de más del 20% respecto al control, en el día 45 se observa que el tratamiento de mezcla bacteriana + fertilización al 50% presentó un incremento del 25.73% respecto al control, seguido de los tratamientos mezcla bacteriana + ácidos húmicos con un incremento del 20.62% y la mezcla bacteriana con un incremento del 22.72% respecto al control.

**Cuadro 9.** Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre el diámetro del tallo en las plantas de brócoli

Tratamiento	Diámetro (día 45)	Incremento (%)	Diámetro (día 90)	Incremento (%)
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos	0.69±0.06 ab	20.62	1.38±0.05 a	21.05
Mezcla bacteriana + Fertilización 100%	0.65±0.07 ab	12.93	1.24±0.06 ab	8.77
Mezcla bacteriana	0.70±0.03 ab	22.72	1.23±0.03 b	7.89
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	0.59±0.08 bc	3.14	1.23±0.07 b	7.89
<i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	0.65±0.05 ab	11.36	1.21±0.06 b	6.14
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos, macro y micronutrientes	0.71±0.04 ab	23.77	1.18±0.08 b	3.50
<i>R. planticola</i> KMT10	0.66±0.06 ab	15.73	1.16±0.053 b	1.75
Mezcla bacteriana + Fertilización 50%	0.77±0.02 a	25.17	1.13±0.06 b	---
Control	0.57±0.03 c	---	1.14 ±0.06 b	---

Mezcla bacteriana: *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154) + *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + *R. planticola* KMT10. Valores promedio de 5 repeticiones por tratamiento seguido de desviación estándar, dentro de la misma columna, las letras iguales no representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). El incremento respecto al control se representa en %.



**Figura 9.** Comparación de altura entre los tratamientos, fotografía tomada en el día 90; A) Control, B) Mezcla Bacteriana, C) Mezcla Bacteriana + Ácidos Húmicos

Al evaluar los tratamientos en el día 90 se observa un incremento del 21.05% en el tratamiento de mezcla bacteriana + ácidos húmicos respecto al control. Al evaluar la longitud del tallo de brócoli (Cuadro 10), se observó un incremento del 67.49% respecto al control aplicando el tratamiento de mezcla bacteriana + ácidos húmicos, seguido de los tratamientos de mezcla bacteriana + fertilización al 50 y 100% con un incremento del 20% respecto al control.

**Cuadro 10.** Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre la longitud del tallo en las plantas de brócoli

Tratamiento	Longitud tallo (cm)	Incremento (%)
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos	27.00±0.70 a	67.49
Mezcla bacteriana + Fertilización 50%	19.40±1.25 b	20.35
Mezcla bacteriana + Fertilización 100%	19.36±1.32 b	20.10
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	18.16±1.90 bc	12.65
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos, macro y micronutrientes	17.68±1.33 bc	9.67
Mezcla bacteriana + Ácidos Orgánicos	17.68±2.79 bc	9.67
<i>R. planticola</i> KMT10	16.64±1.41 bc	3.22
<i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	15.84±2.30 bc	---
Mezcla bacteriana	15.84±3.93 bc	---
Control	16.12±1.15 bc	---

Mezcla bacteriana: *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154) + *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + *R. planticola* KMT10. Valores promedio de 5 repeticiones por tratamiento seguido de desviación estándar, dentro de la misma columna, las letras iguales no representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). El incremento respecto al control se representa en %.

Se ha comprobado que la aplicación foliar de ácidos húmicos en hortalizas como lechugas, coliflor y brócoli, beneficia el crecimiento de la planta con incremento en parámetros como la altura de la planta, el diámetro del tallo, el ancho de la cabeza y el aumento del porcentaje de nutrientes presentes en hojas (de Moura *et al.*, 2023), esto se debe a una mejor nutrición por parte de la planta al aumentar la captación de macro y micronutrientes presentes el suelo, lo que se puede atribuir a la capacidad de los ácidos húmicos para formar complejos metálicos,, puesto que su estructura está compuesta por grupos funcionales que permiten establecer complejos estables con metales como Fe, Zn, Cu, Mg y Ca que son los principales micronutrientes presentes en suelo (Tiwari *et al.*, 2023). Los ácidos húmicos actúan en sinergia con los microorganismos al intensificar la exudación radicular liberando ácidos orgánicos que son la fuente primaria de carbono para los microorganismos presentes en el suelo, y estimulan el sistema radicular, hay mayor colonización de microorganismos benéficos y se optimiza la absorción de nutrientes pocos disponibles en el suelo (da Silva *et al.*, 2021).

### **9.3.3. Cuantificación de la masa de brócoli**

En el día 90 se evaluó la masa fresca de follaje y la masa de raíz (Cuadro 11, Figura 10) y se observó que el tratamiento que favoreció la masa fresca de la planta fue la mezcla bacteriana + ácidos húmicos ( $p < 0.05$ ), la cual presentó un incremento del 94.7% respecto al control; seguido de los tratamientos de mezcla bacteriana + ácidos orgánicos y *P. fluorescens*, si bien no se presentan diferencias estadísticas existe una diferencia numérica que representan un incremento del 16.98% respecto al control. En el parámetro de masa de raíz el mejor tratamiento fue mezcla bacteriana + ácidos húmicos, que tuvo un incremento del 233. % respecto al control ( $p \leq 0.05$ ).

**Cuadro 11.** Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre la masa fresca del follaje y la masa de la raíz del brócoli

Tratamiento	Masa fresca (g)	Incremento (%)	Masa raíz (g)	Incremento (%)
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos	121.50±12.43 a	94.71	40.00 ±20.91 a	233
<i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	73.00±8.06 b	16.98	36.00±6.51 ab	200
Mezcla bacteriana + Ácidos Orgánicos	73.00±11.18 b	16.98	27.00±16.43 ab	125
Mezcla bacteriana + Fertilización 50%	67.20±8.67 b	7.69	13.00±6.70 b	8
Mezcla bacteriana	65.20±8.19 b	4.48	28.00±14.40 ab	133
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos, macro y micronutrientes	61.60±8.29 b	---	31.00±10.24 ab	158
Mezcla bacteriana + Fertilización 100%	64.80±7.56 b	3.84	24.00±9.61 ab	100
<i>R. planticola</i> KMT10	57.60±4.97 b	---	27.00±7.58 ab	125
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	56.80±5.76 b	---	30.00±3.53 ab	150
Control	62.40±6.84 b	-----	12.00±8.36 b	---

Mezcla bacteriana: *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154) + *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + *R. planticola* KMT10. Valores promedio de 5 repeticiones por tratamiento seguido de desviación estándar, dentro de la misma columna, las letras iguales no representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). El incremento respecto al control se representa en %.



**Figura 10.** Comparación de masa fresca de follaje y masa de raíz en plantas de brócoli, tratadas con A) MBAH, B) Control

Se ha reportado que, al aplicar ácidos húmicos directamente en el sistema radicular de las plantas, la superficie radicular incrementa, lo que permite a las plantas una mayor asimilación de los nutrientes (Jin *et al.*, 2024); de igual manera, mejoran las propiedades físicas y químicas del suelo, así como la actividad microbiana, manteniendo su fertilidad. Sin embargo, la aplicación

foliar de ácidos húmicos actúa directamente sobre la fotosíntesis al aumentar los niveles de clorofila en planta, se refleja en la producción de biomasa, plantas más robustas, y en el aumento de los rendimientos de producción (Tiwari *et al* 2023). De Moura y colaboradores (2023) mencionan que al aplicar una marca comercial de ácidos húmicos en plantas de tomate se obtuvo un incremento en la altura de la planta, diámetro del tallo, número de frutos, masa seca y fresca del fruto, pesos fresco y seco de la raíz, así como el volumen y longitud de la raíz. En experimentos realizados por Zambrano y colaboradores (2024), en la bioestimulación de plátano en la variedad Barraganete, mostraron que los ácidos húmicos y los aminoácidos incrementaron significativamente la altura de las plantas hasta 25% y el peso seco de raíces en 30%, mientras que, en la variedad Hartón, las fitohormonas y los aminoácidos mejoraron la altura de las plantas en 20% y el diámetro del pseudotallo en 15%. Los aminoácidos estimularon el área foliar en 35% y el índice de clorofila en 40% en ambas variedades. Los datos anteriores muestran que los bioestimulantes pueden mejorar la absorción de nutrientes y activar las rutas metabólicas esenciales para el crecimiento. Lo cual coincide con los resultados obtenidos en el presente proyecto, pues los bioestimulantes demostraron efectos positivos significativos en el crecimiento y la calidad de las plántulas de brócoli, al optimizar el desarrollo de las plantas y promover una agricultura más rentable, sostenible y eficiente.

#### **9.4. Evaluación de parámetros de campo**

A los 90 días posteriores a la siembra en campo se registraron la altura y masa fresca, longitud y diámetro del tallo, masa de la raíz y altura y masa del florete. Para cada tratamiento se consideraron 5 repeticiones, obteniendo un total de 50 muestras analizadas.

##### **9.4.1. Altura de plantas de brócoli**

Se evaluó la altura de la planta de brócoli durante tres diferentes etapas fenológicas; 1) crecimiento vegetativo (día 30), 2) formación del florete (día 60) y 3) maduración y cosecha del florete (día 90). En el Cuadro 12 se muestra que estadísticamente no hay diferencias entre los tratamientos durante las dos primeras etapas fenológicas, sin embargo, se pueden observar tendencias. Por ejemplo, en el día 30, el tratamiento con cepas inoculadas de *A. brasilense* incremento un 14.96% respecto al control; en el día 60 incremento un 8.34% respecto al control,

seguido de los tratamientos de mezcla bacteriana+ fertilización al 100% con un incremento del 8 %, mientras que la mezcla bacteriana + fertilización al 50% aumento un 10 % respecto al control. En el día 90 se observó que los tratamientos de mezcla bacteriana complementados con fertilización al 50% y fertilización al 100% presentan un incremento del 16% respecto al control, resultando como los mejores tratamientos aplicados (Figura 11).

**Cuadro 12.** Efecto de los tratamientos aplicados sobre la altura de la planta del brócoli

Tratamiento	Altura (cm)		
	Día 30	Día 60	Día 90
Mezcla bacteriana + Fertilización 50%	25.92±2.95 a	43.80±2.39 a	56.40±1.81 a
Mezcla bacteriana + Fertilización 100%	24.16±1.08 a	43.04±3.07 a	54.60±2.07 ab
Mezcla bacteriana + Ácidos Orgánicos	26.84±3.1 a	42.52±2.54 a	53.60±2.51 ab
<i>R. planticola</i> KMT10	26.80±1.64 a	41.20±3.35 a	51.00±3.80 ab
<i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	27.32±2.98 a	42.96±3.95 a	51.00±1.87 ab
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	29.04±3.14 a	43.12±6.24 a	51.00±5.65 ab
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos	25.92±1.01 a	40.04±1.71 a	50.00± 5.38 ab
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos, macro y micronutrientes	26.12±1.8 a	40.20±4.09 a	49.60±5.41 ab
Mezcla bacteriana	26.84±3.1 a	40.20±2.39 a	49.40± 3.04 ab
Control	25.56±3.89 a	39.80±2.41 a	48.04±3.64 b

Mezcla bacteriana: *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154) + *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + *R. planticola* KMT10. Valores promedio de 5 repeticiones por tratamiento seguido de desviación estándar, dentro de la misma columna, las letras iguales no representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). El incremento respecto al control se representa en %.

Estudios realizados por Biswas y colaboradores (2021) mencionan que al aplicar el 50 % de la dosis recomendada de fertilizante químico adicionado con fertilizantes orgánicos en diferentes cantidades, la altura promedio de las plantas de brócoli fue de 52.94 cm con una altura máxima de 60.11 cm. De igual forma Saini y colaboradores (2021) señalan que la aplicar el 50 % de dosis recomendada de fertilizante adicionado con PGPR (*Azospirillum*) se obtuvo una altura promedio en las plantas de brócoli de 54.07 cm, en general las alturas son similares a la obtenida, sin embargo, en otro estudio en donde se aplicó como tratamiento el 50 % de la dosis recomendada de fertilizante químico y 50 % de estiércol de granja el promedio de la altura fue de 57.28 cm, que está por encima de la altura que se obtuvo (Kamil *et al.*, 2024), en cuanto a los tratamientos en los que se aplicó únicamente el 100% de la dosis recomendada se obtuvieron alturas de 50 cm (Walling *et al.*, 2022), 52.24 cm (Saini *et al.*, 2024), 53.76 cm (Biswas *et al.*, 2021). Se demuestra que agentes químicos como los fertilizantes y los agentes biológicos las

bacterias promotoras de crecimiento vegetal, se pueden complementar para favorecer la productividad de los cultivos (Arana 2024).



**Figura 11.** Comparación de la altura entre los tratamientos de A) Control, B) MBAO y C) MBF50

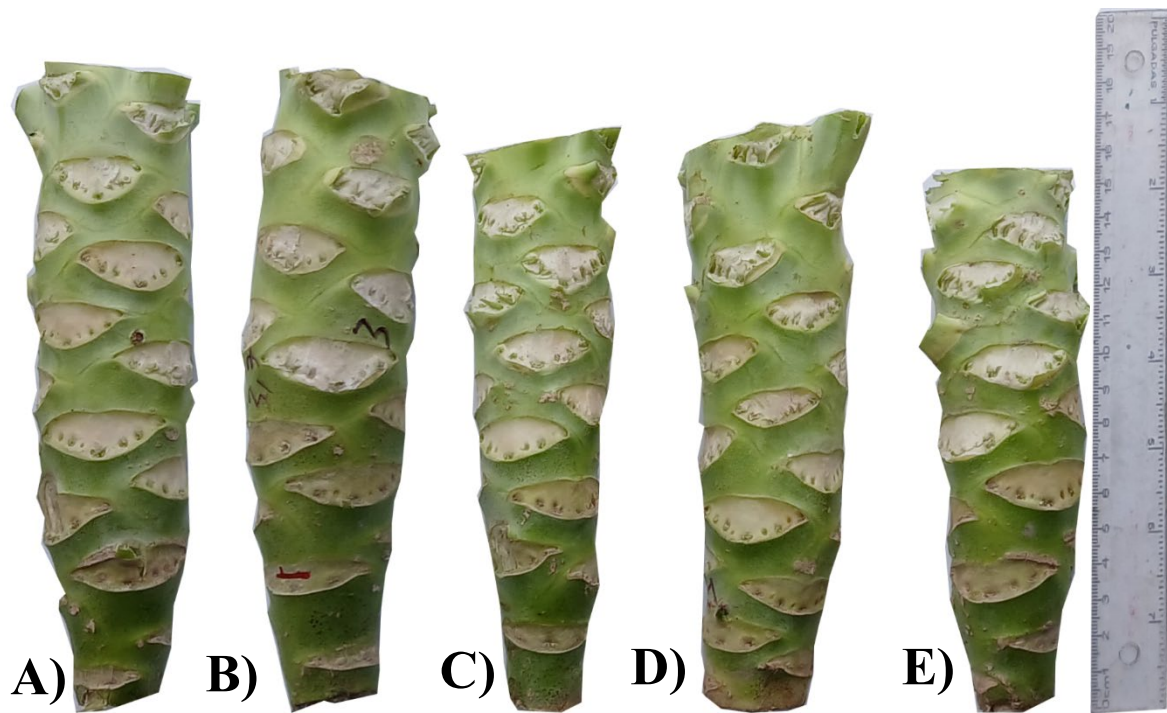
#### 9.4.2. Longitud y diámetro del tallo

En la evaluación de la longitud del tallo (Cuadro 13) se encontró que los mejores tratamientos presentan un incremento superior del 10% respecto al control, en donde el tratamiento de mezcla bacteriana + fertilización al 100% presento un incremento del 13.75 %, seguido de los tratamientos de mezcla bacteriana+ ácidos orgánicos con un incremento del 11.31 % respecto al control la mezcla bacteriana + fertilización al 50% y *Raoultella* presentan un incremento del 11.25% respecto al control (Figura 11).

**Cuadro 13.** Efecto de la longitud y diámetro del tallo del brócoli al aplicar bioestimulantes

Tratamiento	Longitud Tallo (cm)	Incremento %	Longitud diámetro (cm)	Incremento %
Mezcla bacteriana + Fertilización 100%	18.20±0.80 a	13.75	4.06±0.30 a	25.30
Mezcla bacteriana + Ácidos Orgánicos	17.81±0.40 ab	11.31	3.97±0.20 a	22.53
Mezcla bacteriana + Fertilización 50%	17.80±0.80 ab	11.25	3.90±0.20 a	20.37
<i>R. planticola</i> KMT10	17.80±1.60 ab	11.25	4.09±0.30 a	26.23
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos	17.60±0.50 ab	10.00	3.80±0.20 ab	17.28
<i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	17.20±1.30 ab	7.50	3.48±0.10 bc	7.40
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	17.00±1.22 ab	6.25	3.97±0.20 a	22.53
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos, macro y micronutrientes	17.00±1.30 ab	6.25	3.80±0.60 ab	17.28
Mezcla bacteriana	16.40±0.50 ab	1.50	4.05±0.10 a	25.00
Control	16.00±1.20 b	---	3.24±0.20 c	---

Mezcla bacteriana: *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154) + *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + *R. planticola* KMT10. Valores promedio de 5 repeticiones por tratamiento seguido de desviación estándar, dentro de la misma columna, las letras iguales no representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). El incremento respecto al control se representa en %.



**Figura 12.** Comparación de la longitud de tallo en los tratamientos de A) MBF50 B) MBF100, C) MB, D) MBAO, E) control



**Figura 13.** Comparación del diámetro de tallo en los tratamientos de A) Control B) MBF100, C) MBAO, D) BFN

En estudios en donde se evaluaron los parámetros de longitud y diámetro del tallo, se aplicaron tratamientos con el 100% de dosis recomendada de fertilizante, se obtuvo la longitud del tallo de 22.52 cm con un diámetro de 4.04 cm (Saini *et al.*, 2024); 2.07 cm (Walling *et al.*, 2021) , en el tratamiento en el que se aplicó 50% de dosis recomendada de fertilizante y el 50% de inóculo de *Azospirillum* se obtuvo una longitud del tallo de 25.94 cm y diámetro de 5.85 cm, en cuanto al tratamiento en el cual se aplicó únicamente *Azospirillum* se presentó una longitud de tallo de 25.81 cm con un diámetro de 3.38 cm (Saini *et al.*, 2024), comparando con los resultados obtenidos en el parámetro de longitud del tallo se observan longitudes superiores, por el contrario al analizar los datos del diámetro los resultados obtenidos son semejantes.

#### 9.4.3. Evaluación de la longitud y masa fresca de raíz

Al evaluar la masa y longitud de raíz, los mejores tratamientos presentan un incremento superior del 20% respecto al control. Al medir la longitud de raíz (Cuadro 14, Figura 14) en el tratamiento de mezcla bacteriana + fertilización al 100% se encontró un incremento del 30% respecto al control ( $p < 0.05$ ), sin embargo al evaluar la masa de raíz (Cuadro 14) el incremento es del 14.5 % respecto al control; mientras que al evaluar el efecto de la aplicación del tratamiento de *Raoultella planticola* KMT10 sobre la masa de la raíz se presenta un incremento del 58% respecto al control ( $p < 0.05$ ) (Cuadro 14) y en el parámetro de longitud de raíz (Cuadro 14) el incremento respecto al control fue de 13% quedando por debajo del tratamiento de fertilización al 100%

**Cuadro 14.** Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre la longitud de raíz

Tratamiento	Longitud Raíz (cm)	Incremento (%)	Masa raíz (g)	Incremento (%)
Mezcla bacteriana + Fertilización 100%	25.00±1.00 a	30.20	58.40±14.60 b	14.50
Mezcla bacteriana + Ácidos Orgánicos	24.00±1.10 a	25.00	59.40±8.80 b	16.47
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos, macro y micronutrientes	24.00±2.70 a	25.00	59.40±0.90 b	16.47
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos	22.79±2.40 ab	18.69	59.40±11.20 b	16.47
<i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	22.79±0.40 ab	18.69	49.99±3.60 b	---
Mezcla bacteriana + Fertilización 50%	21.79±1.10 ab	13.48	59.40±4.90 b	16.47
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	21.79±1.10 ab	13.48	63.00±11.80 ab	23.52
Mezcla Bacteriana	21.79±2.50 ab	13.48	56.59±4.90 b	10.96
<i>R. planticola</i> KMT10	21.74±2.50 ab	13.22	80.59±14.70 a	58.01
Control	19.20±2.50 b	---	51.00±3.60 b	---

Mezcla bacteriana: *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154) + *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + *R. planticola* KMT10. Valores promedio de 5 repeticiones por tratamiento seguido de desviación estándar, dentro de la misma columna, las letras iguales no representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). El incremento respecto al control se representa en %.



**Figura 14.** Comparación de la masa de raíz entre los tratamientos A) Control, B) BFN C) BSF, D) BR, E) MB

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal como *Raoultella*, *A. brasilense* y *P. fluorescens* tienen mecanismos directos para la producción de hormonas reguladoras del crecimiento vegetal, como la auxina y el ácido indol acético que promueven la proliferación celular y el desarrollo de raíces laterales, adventicias y pelos radiculares aumentando así el área superficial de la raíz, lo que incrementa la absorción de nutrientes (Dutta *et al.*, 2024).

#### 9.4.4. Evaluación de masa y altura del florete

Para analizar y determinar la eficacia de los tratamientos, se evaluó la masa y la altura del florete (Figura 15). Al tomar la altura del florete (Cuadro 15) se determinó que al utilizar el tratamiento de *A. brasilense* produjo un incremento del 66.88% respecto al control ( $p < 0.05$ ), *R. planticola* presentó un incremento del 57.37% respecto al control correspondiendo a los tratamientos con mayor incremento

**Cuadro 15.** Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre la altura del florete

Tratamiento	Altura del florete (cm)	Incremento (%)
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	20.36±7.74 a	66.88
<i>R. planticola</i> KMT10	19.20±2.83 ab	57.37
Mezcla bacteriana	16.20±3.57 abc	32.78
Mezcla bacteriana + Fertilización 50%	16.00±2.88 abc	31.14
Mezcla bacteriana + Ácidos Orgánicos	16.00 ± 3.00 ab	31.14
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos, macro y micronutrientes	15.60±2.07 abc	27.86
<i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	15.44±2.78 abc	26.55
Mezcla bacteriana + Fertilización 100%	15.40±4.10 abc	26.22
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos	13.80±2.28 bc	13.14
Control	12.20±3.16 c	---

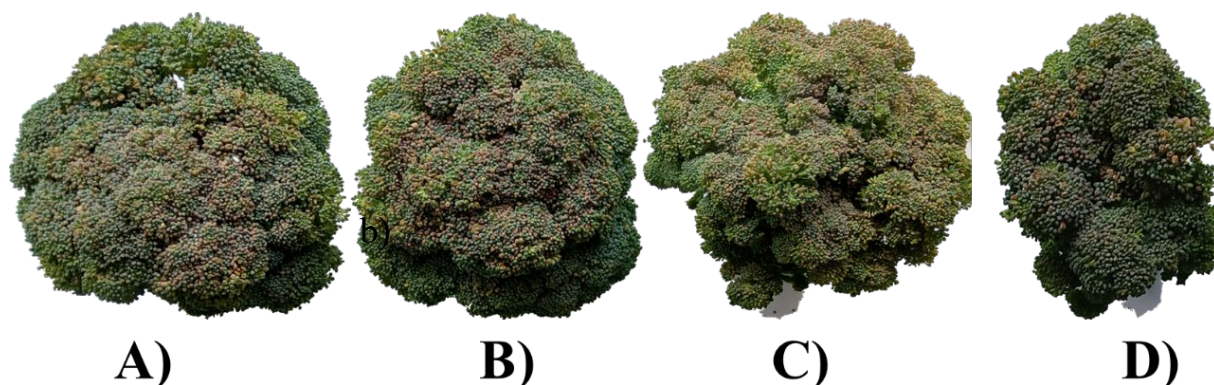
Mezcla bacteriana: *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154) + *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + *R. planticola* KMT10. Valores promedio de 5 repeticiones por tratamiento seguido de desviación estándar, dentro de la misma columna, las letras iguales no representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). El incremento respecto al control se representa en %.

En el caso de la masa del florete (Cuadro 156, figura 15) se determinaron incrementos superiores del 100 % respecto al control en los mejores tratamientos (MB50%, BR, BFN, MBAO); la mezcla bacteriana+ fertilización al 50% presentó un incremento de 131.22% respecto al control, resultando como el mejor tratamiento ( $p < 0.05$ ). En seguida se encuentra el tratamiento de *Raoultella* con un incremento del 114.75% respecto al control, *A. brasilense* con un incremento del 112.64% respecto al control y la mezcla bacteriana+ ácidos orgánicos con un incremento del 106.87 %.

**Cuadro 16.** Efecto de la aplicación foliar de bioestimulantes sobre la masa del florete

Tratamiento	Masa florete (g)	Incremento (%)
Mezcla bacteriana + Fertilización 50%	585.80±88.45 a	131.22
<i>R. planticola</i> KMT10	543.20±79.20 ab	114.70
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	538.00±214.9 0ab	112.64
Mezcla bacteriana + Ácidos Orgánicos	523.40 ± 321.70 ab	106.87
Mezcla bacteriana + Fertilización 100%	423.60±131.28 ab	67.43
<i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	361.40±158.20 ab	42.84
Mezcla bacteriana	347.20±180.90 ab	37.23
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos, macro y micronutrientes	299.00±57.08 ab	9.48
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos	277.00±168.99 ab	18.18
Control	253.00±219.84 b	---

Mezcla bacteriana: *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154) + *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + *R. planticola* KMT10. Valores promedio de 5 repeticiones por tratamiento seguido de desviación estándar, dentro de la misma columna, las letras iguales no representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). El incremento respecto al control se representa en %.



**Figura 15.** Comparación de la masa del florete : A) MBF50, B) MBF100, C) BFN, D) Control

Estudios similares evaluaron los parámetros de masa del florete para determinar el rendimiento de producción. Los autores señalaron que al aplicar el 100% de la dosis recomendada de fertilizante el promedio de la masa del florete es de 465.66 g y al aplicar el 50% de dosis recomendada de fertilizante y 50% estiércol de granja se obtiene una masa de 510.42 g (Kamil *et al.*, 2024). Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal como *A. brasilense*, *R. planticola* y *P. fluorescens* desempeñan un papel clave en el crecimiento vegetal al aumentar la disponibilidad y concentración de nutrientes a la raíz, a través de mecanismos como la fijación de nitrógeno y solubilización de fósforo, que son los nutrientes fundamentales para el desarrollo de las plantas (Hassan *et al.*, 2024)

#### 9.4.5. Evaluación de masa fresca de la planta de brócoli

Al evaluar la masa fresca de la planta de brócoli (Cuadro 17) el tratamiento de mezcla bacteriana + fertilización al 50% el incremento fue de 59% respecto al control ( $p < 0.05$ ), mientras que con el tratamiento de *A. brasilense* el incremento fue de 51.13% respecto al control y en seguida se encuentra el tratamiento de mezcla bacteriana + fertilización al 100% con un incremento de 48.05% respecto al control-

**Cuadro 17.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre la masa fresca total de la planta de brócoli

Tratamiento	Masa fresca total de la planta(g)	Incremento (%)
Mezcla bacteriana + Fertilización 50%	1372.40±192.09 a	59.13
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	1303.40±305.28 ab	51.13
Mezcla bacteriana + Fertilización 100%	1276.80±258.32 abc	48.05
Mezcla bacteriana	1130.40±125.97 abc	31.07
Mezcla bacteriana + Ácidos Orgánicos	1107.40±164.59 b	28.04
<i>R. planticola</i> KMT10	1065.40±304.09 abc	23.53
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos	1053.20±292.66 abc	22.12
<i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	908.00±353.95 bc	5.20
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos, macro y micronutrientes	906.80±258.96 bc	5.14
Control	862.40±264.31 c	

Mezcla bacteriana: *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154) + *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + *R. planticola* KMT10. Valores promedio de 5 repeticiones por tratamiento seguido de desviación estándar, dentro de la misma columna, las letras iguales no representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). El incremento respecto al control se representa en %.

Ollio y colaboradores (2023) señalan que la inoculación de semillas o superficies vegetales aumenta la colonización de la rizosfera, de tal manera que mejora la disponibilidad de nutrientes, entre los cuales, los macronutrientes como el NPK se requieren en gran cantidad, puesto que, son fundamentales para llevar a cabo los principales procesos fisiológicos como la fotosíntesis, puesto que hay un incremento en las concentraciones de clorofila en plantas que permite mayor actividad fotosintética, mayor producción de energía resultando mayor crecimiento vegetativo y aumento de biomasa vegetal (Demir *et al* 2023).

#### 9.4.6. Número de hojas

Al evaluar el número de hojas presentes en la planta de brócoli (Cuadro 18), se determinó que el incremento máximo fue de 71.59% respecto al control en el tratamiento de mezcla

bacteriana + ácidos orgánicos ( $p < 0.05$ ). En los tratamientos de mezcla bacteriana, y mezcla bacteriana + fertilización al 100% el incremento fue superior al 50 % respecto al control, seguido de los tratamientos de mezcla bacteriana + ácidos húmicos y macro y micronutrientes con un incremento del 49.70 %; mientras que *P. fluorescens* tuvo un incremento del 43.78% respecto al control y el resto de los tratamientos presentaron un incremento mayor al 10% respecto al control.

**Cuadro 18.** Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre el número de hojas

Tratamiento	Numero de Hojas	Incremento (%)
Mezcla bacteriana + Ácidos Orgánicos	58.00±9.30 a	71.59
Mezcla bacteriana + Fertilización 100%	53.20±10.89ab	57.39
Mezcla bacteriana	51.40±10.69ab	52.07
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos, macro y micronutrientes	50.60±11.63 ab	49.70
<i>P. fluorescens</i> (BUAP- AM55 y BUAP-P16)	48.60±6.27 ab	43.78
<i>A. brasilense</i> (UAP-151 y UAP-154)	46.80±10.64 ab	38.46
Mezcla bacteriana + Fertilización 50%	43.20±7.15ab	27.81
<i>R. planticola</i> KMT10	38.20±7.69b	13.01
Mezcla bacteriana + Ácidos Húmicos	37.80±9.44b	11.83
Control	33.80±4.43b	---

Mezcla bacteriana: *A. brasilense* (UAP-151 y UAP-154) + *P. fluorescens* (BUAP- AM55 y BUAP-P16) + *R. planticola* KMT10. Valores promedio de 5 repeticiones por tratamiento seguido de desviación estándar, dentro de la misma columna, las letras iguales no representan diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). El incremento respecto al control se representa en %.

Los ácidos orgánicos como bioestimulantes favorecen la interacción planta-microorganismo al liberar exudados que son fuente de carbono y energía para los microorganismos presentes en el suelo estimulando su actividad en la rizosfera (Macias *et al* 2020) y al mismo tiempo actúan como quimioatrayentes que favorecen la colonización de la raíz, e incrementan la arquitectura radicular y la disponibilidad de nutrientes en la planta, se refleja en el desarrollo e incremento de la biomasa de las plantas (Panchal *et al* 2021).

Las PGPR desempeñan un papel vital en la mejora del crecimiento y el rendimiento de las plantas. Las rizobacterias mejoran el crecimiento de las plantas a través de la liberación de diferentes hormonas, como auxinas, citoquininas y giberelinas. Además, producen metabolitos secundarios que se asocian con el fortalecimiento de los mecanismos de defensa de las plantas de fitopatógenos (Timmusk *et al.*, 2017). Las PGPR aumentan la germinación de las semillas, la floración temprana, el rendimiento de los frutos, la biomasa total, la longitud de las raíces, la longitud de los brotes y mejoran la absorción de nutrientes (Khan *et al.*, 2020). A la fecha se desconoce el número exacto de mecanismos de acción de las PGPR. Sin embargo, dentro de los

mecanismos más conocidos están: Fijación biológica del nitrógeno, mineralización de nutrientes, producción de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal, producción de antibióticos, incremento en la biodisponibilidad de hierro por medio de los sideróforos, solubilización de fosfatos y potasio, aumento en el crecimiento a través de la producción de la ACC deaminasa, y la detoxificación de metales (Hyder *et al.*, 2023). La actividad de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en el cultivo de brócoli depende de varios factores, la relación planta-bacteria y en muchas ocasiones la especificidad, además de los factores físicos y químicos del suelo como el pH, la cantidad de materia orgánica y la disponibilidad de nutrientes, entre otros (Gamalero *et al.*, 2010). Generalmente, el mecanismo de interacción entre los microorganismos y las plantas se produce a través de los exudados radiculares, que atraen a los microbios y les proporcionan nutrientes y protección (Ahemad y Kibret, 2014). A cambio, las bacterias mejoran el crecimiento vegetal fijando nutrientes en forma consumible y poniéndolos a disposición de las plantas (Vejan *et al.*, 2016).

## 10. CONCLUSIÓN

Se determinó que la inoculación de semillas de brócoli con bacterias promotoras del crecimiento vegetal incrementa el porcentaje de germinación. Durante el análisis de sanidad de semillas se identificaron dos hongos: *Alternaria* spp., uno de los fitopatógenos más comunes y responsable de importantes pérdidas en el cultivo de brócoli; y *Ulocladium* spp. reportado por primera vez en la semilla de brócoli, sin embargo, se ha asociado como patógeno en otras semillas.

En esta investigación se obtiene una alternativa eficaz y sostenible para mejorar el desarrollo y rendimiento del cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* var. *itálica*) mediante el uso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), combinadas con la aplicación foliar de bioestimulantes como los ácidos orgánicos y ácidos húmicos. La inoculación con cepas de *A. brasilense*, *P. fluorescens* y *R. planticola* demostró tener efectos positivos sobre la calidad de las plantas, aumentando significativamente la biomasa tanto en condiciones de invernadero como de campo. Así mismo se comprobó que el uso de bioestimulantes y biofertilizantes permite reducir hasta un 50% el uso de fertilizantes químicos sin comprometer el rendimiento, de tal manera que contribuye a una agricultura más rentable, ecológica y segura.

Esta estrategia puede resultar clave para fortalecer la seguridad alimentaria, principalmente en regiones donde la producción hortícola representa una fuente económica fundamental para pequeños productores.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

- Abd El-Fattah, D., Hashem, F., & Farag, A. (2021). Potentiality of Using Mycorrhizae and *Pseudomonas fluorescens* in Reducing the Effect of Water Shortage on Broccoli Plants. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 0(0), 0–0. <https://doi.org/10.21608/ajs.2021.98841.1424>
- Abdelaziz, S. M (2022). Effect of plant growth promoting rhizospheric microorganisms and humic acid application on productivity of wheat crop. *Egyptian Journal of Applied Science*, 37(7), 58-69. doi: 10.21608/ejas.2022.270555
- Abdelwehab, S. A., El-Nagerabi, S. A., & Elshafie, A. E. (2014). Mycobiota associated with imported seeds of vegetable crops in Sudan. *Open Mycol J*, 8, 156-173.
- Acurio Vásconez, R. D., Mamarandi Mossot, J. E., Ojeda Shagñay, A. G., Tenorio Moya, E. M., Chiluisa Utreras, V. P., & de los Ángeles Vaca Suquillo, I. (2020). Evaluation of *Bacillus* spp. as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) and lettuce (*Lactuca sativa*). *Ciencia Tecnología Agropecuaria*, 21(3): e1465 [https://doi.org/10.21930/RCTA.VOL21\\_NUM3\\_ART:1465](https://doi.org/10.21930/RCTA.VOL21_NUM3_ART:1465)
- Alcantar-Gonzalez, G., Trejo-Tellez L.L. Ferenandez-Pavia, L. y Rodriguez-Mendoza M.N. (2007). Elementos esenciales. pp 7-43. In: Alcantar Gonzalez y Trejo-Tellez (Compiladores). Nutrición de cultivos. Mundi Prensa México y Colegio de Postgraduados.
- Alshwaili, N. S., Mijwel, A. K., & Jasman, A. K. (2023). Effect of Fertilizing with Sludge and Two Strains of PGPB Bacteria on Improving Growth and Yield of Broccoli. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1158(4). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1158/4/042006>
- Álvarez-García, J.-A., Santoyo, G., Del, M., & Rocha-Granados, C. (2020). *Pseudomonas fluorescens*: Mecanismos y aplicaciones en la agricultura sustentable. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 16(1), 1–10.
- Arana Arana, A. J. (2024). *Eficacia y sinergias entre fertilizantes químicos y orgánicos en la productividad agrícola* (Bachelor's thesis, BABAHOYO: UTB, 2024).
- Arévalo, G., & Castellano, M. (2009). Manual de fertilizantes y enmiendas: Programa para la agricultura sostenible en laderas de América Central. *San Antonio de Oriente: Escuela Agrícola Panamericana*.

- Arratia-Castro, A. A., Fernández-Herrera, E., Gómez-Espinoza, M. G., Herrera-Flores, T. S., Moreno-Contreras, M. G., Licea-De Anda, E. M., & Ramírez-Bustos, I. I. (2022). *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* and *Fusarium verticillioides* identified as causal agents of broccoli head rot in Mexico. *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 28(3), 175–188. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2022.03.003>
- Asociación Internacional de la Industria de los Fertilizantes (IFA). (2002). *Los fertilizantes y su uso*.
- Beigmohammadi, F., Solgi, E., Lajayer, B. A., & van Hullebusch, E. D. (2023). Role and importance of microorganisms in plant nutrition and remediation of potentially toxic elements contaminated soils. In *Sustainable Plant Nutrition* (pp. 179-208). Academic Press.
- Belmas, E., Briand, M., Kwasiborski, A., Colou, J., N’Guyen, G., Iacomi, B., ... & Guillemette, T. (2018). Genome sequence of the necrotrophic plant pathogen *Alternaria brassicicola* Abra 43. *Genome announcements*, 6(6), 10-1128.
- Benítez, S. P., Mario, L., Delgado, O. A., & Medina, C. I. (2013). Estudios de germinación y remoción de latencia en semillas de papayuelas *Vasconcellea cundinamarcensis* y *Vasconcellea goudotiana*. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 14(2), 187197. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol14\\_num2\\_art:407](https://doi.org/10.21930/rcta.vol14_num2_art:407).
- Borboa Jesús, Wong Francisco, Rodríguez Francisco, Hernández Luis Guillermo, Reyes Juan José, & Rueda Edgar. (2016). Plant growth promoting halobacteria in Brassica oleracea in Northwest of Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 17: 3509–3519.
- Bhupenchandra, I., Devi, S. H., Basumatary, A., Dutta, S., Singh, L. K., Kalita, P., ... & Borah, K. (2020). Biostimulants: potential and prospects in agriculture. *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*, 21(14), 20-35.
- Biswas, A., Upadhyay, D., & Rathiya, P. S. (2021). Effect of inorganic fertilizer and organic manures on growth and yield of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) cv. Palam Samridhi at Norther Hill of Chhattisgarh. *The Pharma Innovation Journal*, 10(10), 1000-1003.
- Caballero C., M., Valero-Valero, N., & Pantoja-Guerra, M. (2022). Revisión: posibilidades de bioestimulación con ácidos húmicos en plantas utilizadas para fitorremediación review: viability of humic acids. *Ciencia e Ingeniería*, 9(1), e6723403.

- Cabrefiga, J., & Boix, M. (2024). Los bioestimulantes, ¿van a revolucionar la fertilización del futuro? *Vida Rural*, 2024, 550, Mayo, 26-32.
- Caroca, R., Zapata, N., & Vargas, M. (2016). TEMPERATURE EFFECT ON THE GERMINATION OF FOUR PEANUT GENOTYPES (*Arachis hypogaea* L.). *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 32(2), 94-101.
- Cassán, F., Coniglio, A., López, G., Molina, R., Nievas, S., de Carlan, C. L. N., Donadio, F., Torres, D., Rosas, S., Pedrosa, F. O., de Souza, E., Zorita, M. D., de-Bashan, L., & Mora, V. (2020). Everything you must know about *Azospirillum* and its impact on agriculture and beyond. In *Biology and Fertility of Soils* (Vol. 56, Issue 4, pp. 461–479). Springer. <https://doi.org/10.1007/s00374-020-01463-y>
- Chaudhary, T., Dixit, M., Gera, R., Shukla, A. K., Prakash, A., Gupta, G., & Shukla, P. (2020). Techniques for improving formulations of bioinoculants. *3 Biotech*, 10(5), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02182-9>.
- Chávez Arteaga Karen Tatiana, & Chanchignia Martínez Hayron Fabricio. (2022). Capacidad biocontroladora del hongo *Trichoderma* Spp hacia *Alternaria* Spp en el cultivo de Brócoli (*Brassica oleracea*). *Universidad Técnica Estatal de Quevedo*, 6–8.
- Chávez-Díaz, I. F., Zelaya Molina, L. X., Cruz Cárdenas, C. I., Rojas Anaya, E., Ruíz Ramírez, S., & Santos Villalobos, S. D. L. (2020). Consideraciones sobre el uso de biofertilizantes como alternativa agro-biotecnológica sostenible para la seguridad alimentaria en México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(6), 1423-1436.
- Conti, M. E. (2007). Principios de edafología con énfasis en suelos argentinos. Universidad de Buenos Aires.
- Cruz, O. R., Piraneque N., Aguirre A., S.E. (2023). Introducción a la biología y microbiología de suelos.
- Cruz Romero, W., Barrios Díaz, J. M., Rodríguez Mendoza, M. D. L. N., Espinoza Victoria, D., & Tirado Torres, J. L. (2016). Producción de plántulas de hortalizas con *Azospirillum* spp. y aspersión foliar de miel de abeja. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(1), 59-70
- Cubero-Agüero, D., Brenes-Guillén, L., Vidaurre-Barahona, D., & Uribe-Lorío, L. (2021). *Raoultella terrigena* and *Pectobacterium carotovorum* in vegetables in two provinces of

- Costa Rica. *Agronomia Mesoamericana*, 32(1), 178–195.  
<https://doi.org/10.15517/am.v32i1.40845>
- De Bang, T. C., Husted, S., Laursen, K. H., Persson, D. P., & Schjoerring, J. K. (2021). The molecular–physiological functions of mineral macronutrients and their consequences for deficiency symptoms in plants. *New Phytologist*, 229(5), 2446-2469.
- De Moura, O. V. T., Berbara, R. L. L., de Oliveira Torchia, D. F., Da Silva, H. F. O., de Castro, T. A. V. T., Tavares, O. C. H., ... & García, A. C. (2023). Humic foliar application as sustainable technology for improving the growth, yield, and abiotic stress protection of agricultural crops. A review. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 22(8), 493-513.
- Da Silva, M. S. R. D. A., dos Santos, B. D. M. S., da Silva, C. S. R. D. A., da Silva, C. S. R. D. A., Antunes, L. F. D. S., dos Santos, R. M., ... & Rigobelo, E. C. (2021). Humic substances in combination with plant growth-promoting bacteria as an alternative for sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 12, 719653.
- Demir, H., Sönmez, İ., Uçan, U., & Akgün, İ. H. (2023). Biofertilizers Improve the Plant Growth, Yield, and Mineral Concentration of Lettuce and Broccoli. *Agronomy*, 13(8).  
<https://doi.org/10.3390/agronomy13082031>
- Devi, NB (2021). Biomasa microbiana del suelo como índice de la calidad y fertilidad del suelo en diferentes sistemas de uso del suelo del noreste de la India. En: Soni, R., Suyal, DC, Bhargava, P., Goel, R. (eds.) *Actividad microbiológica para la gestión de la salud del suelo y las plantas*. Springer, Singapur. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-2922-8\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-16-2922-8_4)
- Dutta, S. *et al.* (2024). Crecimiento de Plantas que Promueven las Rizobacterias: Dirección Futura para Mitigar el Riesgo de Producción de Cultivos. En: Adhikary, P.P., Shit, P.K., Laha, J. (eds) *Soil, Water Pollution and Mitigation Strategies*. Ciencias Ambientales e Ingeniería. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-63296-9\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-031-63296-9_6)
- Escobosa-García, I., Vázquez-Medina, M., Samaniego-Gámez, B. Y., Valle-Gougli, R. E., Vázquez-Angulo, J. C., & Nuñez-Ramírez, F. (2022). Efecto del acolchado en repollo cultivado en el Valle de Mexicali. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 28: 197–206.  
<https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v13nspe28/2007-0934-remexca-13-spe28-197.pdf>
- FAO. (2024). Portal de suelos de la FAO. <https://www.fao.org/soils-portal/es/>

- Farhad, M., Rana, M. A. K., Ahmad, R., Virk, Z. A., Iqbal, M., Ilyas, M. F., ... & Tauqeer, H. M. (2023). Roles of Organic Acids in Plant Stress Tolerance, Food Security, and Soil Remediation. In *Climate-Resilient Agriculture, Vol I: Crop Responses and Agroecological Perspectives* (pp. 713-729). Cham: Springer International Publishing.
- Fraire-Cordero, M. D. L., Nieto-Angel, D., Cárdenas-Soriano, E., Gutiérrez-Alonso, G., Bujanos-Muñiz, R., & Vaquera-Huerta, H. (2010). *Alternaria tenuissima*, *A. alternata* y *Fusarium oxysporum* hongos causantes de la pudrición del florete de brócoli. *Revista mexicana de fitopatología*, 28(1), 25-33.
- Galindo, L. A. G., Rivas, A. C., Melendez, J. P., & Mayorquín, N. (2020). Alternativas microbiológicas para la remediación de suelos y aguas contaminados con fertilizantes nitrogenados. *Scientia et technica*, 25(1), 172-183.
- Gómez-Gallego, T., Sánchez-Castro, I., Molina, L., Trasar-Cepeda, C., García-Izquierdo, C., Ramos, J. L., & Segura, A. (2024). Phosphorus acquisition by plants: Challenges and promising strategies for sustainable agriculture in the XXI century. *Pedosphere*.
- Gutiérrez-Soto, G., López-Sandin, I., García, F. Z., Cordero, J. F. C., Elizondo-Luevano, J. H., & Hernández, R. A. P. (2024). Efecto del sistema de producción agrícola en las poblaciones microbianas del suelo. *Scientia Agricolis Vita*, 1(1): 29-38.
- Gudiño, I., Martín, A., Casquete, R., Prieto, M. H., Ayuso, M. C., & Córdoba, M. G. (2022). Evaluation of broccoli (Brassica oleracea var. italica) crop by-products as sources of bioactive compounds. *Scientia Horticulturae*, 304, 111284. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111284>
- Hasan, N., Zainal Abidina, N.H. (2024). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and Sustainable Agriculture. In: Dheeman, S., Islam, M.T., Egamberdieva, D., Siddiqui, M.N. (eds) Soil Bacteria. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-97-3473-3\\_9](https://doi.org/10.1007/978-981-97-3473-3_9)
- Hernandez-Hernandez A., (2023). Interacción de microorganismos benéficos en el cultivo de haba (*Vicia faba L.*) en el municipio de Ocotepc, Puebla.
- Hyder, S., Rizvi, Z. F., De los Santos-Villalobos, S. D., Santoyo, G., Gondal, A., Khalid, N., ... & Rani, A. (2023). Applications of plant growth-promoting rhizobacteria for increasing crop production and resilience. *Journal of plant nutrition*, 46(10), 2551-2580.

- Izquierdo, J., & Arévalo, J. (2021). Determinación del carbono orgánico por el método químico y por calcinación. *Ingeniería y Región*, 26, 20-28.
- Jaramillo D. F. (2002). Introducción a la ciencia del suelo. *Escuela de Geociencias y Medio Ambiente*.
- Jin, Y., Yuan, Y., Liu, Z., Gai, S., Cheng, K., & Yang, F. (2024). Effect of humic substances on nitrogen cycling in soil-plant ecosystems: Advances, issues, and future perspectives. *Journal of Environmental Management*, 351, 119738.
- Kageyama, K., & Asano, T. (2009). Life cycle of plasmodiophora brassicae. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28(3), 203–211. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9101-z>
- Khan, N., Bano, A. M., & Babar, A. (2020). Impacts of plant growth promoters and plant growth regulators on rainfed agriculture. *PloS one*, 15(4), e0231426. doi: 10.1371/journal.pone.0231426
- Kamil, Y. S., Shamran, H. M., Abd-Jabbar, E. A., & Al-Safaar, A. H. A. (2024). Effect of foliar application of NPK and amino acid on the growth and yield-related traits of broccoli (*Brassica oleracea* var. *Italica*). *SABRAO J. Breed. Genet*, 56(3), 0-0.
- Lema Margarita, Soengas Pilara, Calvo Susana, & Cartea Elena. (2009). Podredumbre negra. *Horticultura Internacional*, 40–43.
- Li, H., Xia, Y., Liu, H.-Y., Guo, H., He, X.-Q., Liu, Y., Wu, D.-T., Mai, Y.-H., Li, H.-B., Zou, L., & Gan, R.-Y. (2022). Nutritional values, beneficial effects, and food applications of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck). *Trends in Food Science & Technology*, 119, 288–308. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.015>
- Licea-Herrera, JI, Quiroz-Velásquez, JDC, & Hernández-Mendoza, JL (2020). Impacto de Azospirillum Brasilense, una Rizobacteria que estimula la producción del Ácido Indol-3-Acético como el mecanismo de mejora del crecimiento de las plantas en los cultivos agrícolas. *Revista Boliviana de Química*, 37 (1), 34-39.
- López-Reyes, L., Carcaño-Montiel, M.G., Espinosa-Victoria, D., & Tapía-Hernández, A., (2017). Biofertilizantes bacterianos. Un modelo biotecnológico microbiano para el desarrollo agrícola. *Modelos Microbianos para la Investigación Básica y Biotecnología*.

- Lucio, Y. A. V., Moreno-Quinto, J., Quijije-Quiroz, K., Castro, A., García, W. A. M., & Gabriel-Ortega, J. (2020). Los bioestimulantes: Una innovación en la agricultura para el cultivo del café (*Coffea arabica* L). *Journal of the Selva Andina Research Society*, *11*(1), 18-28.
- Ma, Y., Wu, X., Li, S., Tang, L., Chen, M., & An, Q. (2021). Proposal for reunification of the genus *Raoultella* with the genus *Klebsiella* and reclassification of *Raoultella electrica* as *Klebsiella electrica* comb. nov. *Research in Microbiology*, *172*(6), 103851.
- Macías-Holguín, C. J., Canchignia-Martínez, H. F., Delgado-Basurto, V. D., Paucar-Nieto, F. P., Arellano-Ibarra, K. V., & Cedeño-Moreira, Á. V. (2023). Efectos de la co-inoculación de Bioformulados (PGPR's) sobre el porcentaje de germinación y promover el crecimiento en plántula de papaya (*Carica papaya* L.). *Manglar*, *20*(2), 149-155.
- Macias-Benitez, S., Garcia-Martinez, A. M., Caballero Jimenez, P., Gonzalez, J. M., Tejada Moral, M., & Parrado Rubio, J. (2020). Rhizospheric organic acids as biostimulants: monitoring feedbacks on soil microorganisms and biochemical properties. *Frontiers in plant science*, *11*, 633.
- Mamani, A. (2023). Biofertilizantes a base de microorganismos beneficiosos y materia orgánica: una revisión sistemática. *Revista Acciones Médicas*, *2*(4), 43-55.
- Mitra, D., Mondal, R., Khoshru, B., Shadangi, S., Mohapatra, P. K. D., & Panneerselvam, P. (2021). Rhizobacteria mediated seed bio-priming triggers the resistance and plant growth for sustainable crop production. *Current Research in Microbial Sciences*, *2*, 100071. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.10007>
- Morales, J. M. L., García-Morales, S., & GAYTAN, V. G. (2021). Panorama Actual de los Bioestimulantes Agrícolas. *García-Morales, S., García-Gaytán, V. & León-Morales, JM (2021). Panorama Actual de los Bioestimulantes Agrícolas. En JJ Castañeda Nava (Ed.), Tópicos de Herramientas Biotecnológicas para el Desarrollo Agrícola* (, 14-21.
- Nabi, M. (2023). Role of microorganisms in plant nutrition and soil health. In *Sustainable Plant Nutrition* (pp. 263-282). Academic Press. doi:10.1016/B978-0-443-18675-2.00016-X
- Naikoo, N. B., Chesti, M. H., Bhat, M. A., Hassan Mir, A., Bashir, O., Bhat, T. A., ... & Ayoub, L. (2025). Biostimulants towards Soil Health Improvement: A Review. *Agricultural Reviews*, *46*(1).

- Narro-Sánchez, J., Quijano-Carranza, J.A., y Rocha, R.R. 2005. Enfermedades del follaje y florete de brócoli en México. *In: Memorias del VI Seminario Técnico: Tecnología de producción de las crucíferas*. COTECO. Celaya, Gto., México. 95 p.
- Okungbowa, F. I., & Shittu, H. (2012). *Book 7x10 - Template - version\_15*. <https://www.researchgate.net/publication/292243135>
- Olivares-Saenz, E. 1994. Paquete de diseños experimentales. FAUANL. Versión 2.0. Facultad de Agronomía, UANL. Marin N.L.
- Ollio, I., Santás-Miguel, V., Gómez, D. S., Lloret, E., Sánchez-Navarro, V., Martínez-Martínez, S., ... & Zornoza, R. (2023). Effect of biofertilizers on broccoli yield and soil quality indicators. *Horticulturae*, 10(1), 42
- ONU. (2022). *Efectos de plaguicidas y fertilizantes sobre el medio ambiente y la salud y formas de reducirlos*.
- Pacheco-Cano, R. D., Salcedo-Hernández, R., García-Almendárez, B. E., & Barboza-Corona, J. E. (2020). *Microencapsulados de extracto de florete de brócoli (Brassica oleracea var. italica) y su efecto antimicrobiano* (Vol. 5).
- Panchal, P., Miller, AJ, y Giri, J. (2021). Ácidos orgánicos: funciones versátiles en la respuesta al estrés en plantas. *Journal of Experimental Botany*, 72 (11), 4038-4052.
- Pattanamahakul, P. & Strange, R.N. 1999. Identification and toxicity of *Alternaria brassicicola*, the causal agent of dark leaf spot disease of Brassica species grown in Thailand. *Plant Pathology* 48:749-755
- Rachid, A. F., Bader, B. R., & Al-Alawy, H. H. (2020). Effect of foliar application of humic acid and nanocalcium on some growth, production, and photosynthetic pigments of cauliflower (*Brassica oleracea* var. Botrytis) planted in calcareous soil. *Plant Arch*, 20(1), 32-37.
- Raya-Montaña, Y. A., Apáez-Barrios, P., Guillén-Andrade, H., Blanca, M., & Lara-Chavez, N. (2018). Broccoli production based on genotype and nitrogen dose. In *Nota Científica Rev. Fitotec. Mex* (Vol. 41, Issue A).
- Raj, R. D. P., Preethy, H. A., & Rex, K. G. R. (2021). Development of Banana Peel Powder as Organic Carrier based Bioformulation and Determination of its Plant Growth Promoting Efficacy in Rice Cr100g. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(1): 1279-1290. <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.3.18>.

- Risco, D., Gutiérrez, A., Val, J., León, J., Díaz, A., Benalcázar, P., & Prieto, H. (2018). Programación de riego en brócoli (*Brassica oleracea* L. cv. *italica*) en los Andes ecuatorianos. *Idesia (Arica)*, 36(1), 57-63.
- Rivas, L. M. (2014). *Alternaria* spp. In *Rev Chilena Infectol* (Vol. 31, Issue 5). [www.sochinf.cl](http://www.sochinf.cl)
- Rivera-Solís, L. L., Benavides-Mendoza, A., Robledo-Olivo, A., & González-Morales, S. (2023). La salud del suelo y el uso de bioestimulantes. *Agraria*, 20(3), 5-10.
- Rodríguez-Ortiz, J. C., Carballo-Méndez, F. D. J., Preciado-Rangel, P., Hernández-Coronado, M. D. C., Rodríguez-Fuentes, H., & Lozano-Cavazos, C. J. (2021). Broccoli Seedling Production in Response to Recognised Organic Inputs. *International Journal of Agriculture and Biology*, 26(3), 436–442. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1854>
- SADER (2024) La importancia de la producción alimentaria en México <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-importancia-de-la-produccion-alimentaria-en-mexico>
- SAKATA, (2024) Manual técnico del cultivo de brócoli. <https://www.sakata.com.br/assets/downloads/299/sakata-manual-brocolis.pdf>
- Saini, S., Sanjay K., Shatrunjay Y., Krishna J., Uadal S., & Narendra Y. (2024). “Effect of Bio-Fertilizers on Growth Attributes of Broccoli (*Brassica Oleracea* Var. *Italica* L.)”. *International Journal of Plant & Soil Science* 36 (12):367-72. <https://doi.org/10.9734/ijpss/2024/v36i125210>
- Sánchez, C. R & Guerra, R. P (2022). *Pseudomonas* spp. benéficas en la agricultura. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4, 715–725.
- Sánchez-Moreiras, A. M., & Reigosa, M. J. (2018). Advances in plant ecophysiology techniques. In *Advances in Plant Ecophysiology Techniques*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-93233-0>
- Santoyo, J., & Martínez, C. (2011). Tecnología de producción de brócoli. *Fundación Produce Sinaloa AC*, 29.
- Sekowska, A. (2019). The many faces of *Raoultella* spp. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 73, 713–720. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0013.6377>

[https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe\\_12/pdf/Cap3\\_suelos.pdf](https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe_12/pdf/Cap3_suelos.pdf)

SEMARNAT (2024),

Suelos.[http://gisviewer.semarnat.gob.mx/geointegrador/enlace/atlas2010/atlas\\_suelos.pdf](http://gisviewer.semarnat.gob.mx/geointegrador/enlace/atlas2010/atlas_suelos.pdf)

Sharma, N., Manhas, A., VijaiSelvaraj, K.S., Bajpai, A.B., Rather, G.A., Kumar, M. (2025).

Regulation of Essential Plant Nutrients and Beneficial Elements for Growth and Development of Vegetable Crops. In: Ahammed, G.J., Zhou, J. (eds) Growth Regulation and Quality Improvement of Vegetable Crops. Springer, Singapore.

[https://doi.org/10.1007/978-981-96-0169-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-96-0169-1_4)

[https://doi.org/10.1007/978-981-96-0169-1\\_4](https://doi.org/10.1007/978-981-96-0169-1_4)

SIAP. (2018). *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.*

<https://www.gob.mx/agricultura/puebla/articulos/brocoli-un-superalimento-cultivado-por-los-poblanos?idiom=es>

Sindhu, S. S., Sehrawat, A., & Glick, B. R. (2022). The involvement of organic acids in soil fertility, plant health and environment sustainability. *Archives of Microbiology*, 204(12), 720.

Soni, R., Suyal, D. C., Bhargava, P., & Goel, R. (2021). Microbiological Activity for Soil and Plant Health Management. In *Microbiological Activity for Soil and Plant Health Management*. Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-981-16-2922-80>

Urgiles-Gómez, N., Loján, P., Ávila-Salem, M. E., Benavidez-Silva, C., Hurtado, L., Livisaca, F., ... & Quichimbo, L. (2023). Microorganismos benéficos con potencial agrícola: Una alternativa sostenible para la producción de café y calidad del suelo. *Cedamaz*, 13(1):103-113.

Tiwari, J., Ramanathan, A. L., Baudh, K., & Korstad, J. (2023). Humic substances: Structure, function and benefits for agroecosystems—A review. *Pedosphere*, 33(2), 237-249.

Timmusk, S., L. Behers, J. Muthoni, A. Muraya & A. C. Aronsson. 2017. Perspectives and challenges of microbial application for crop improvement. *Frontiers in Plant Science* 8:49. doi: 10.3389/fpls.2017.00049.

Walling, I., Kanaujia, S. P., & Changini, M. (2022). Response of broccoli (*Brassica oleracea* var, *italica*) to integrated nutrient management. *Annals of Plant and Soil Research*, 24(1), 106-109.

- Weller, D.M., J.M. Raaijmakers, B.B. McSpadden Gardener, L.S. Thomashow. 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to Plant Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 40:309-348.
- WingChing-Jones, R., Lorío, L. U., & Barquero, L. C. (2016). Uso de Azospirillum spp. como biofertilizante en la producción de estrella africana (*Cynodon nlemfuensis*). *UNED Research Journal/Cuadernos de Investigación UNED*, 8(2), 259-265.
- Zabaloy, M. C. (2021). Una sola salud: la salud del suelo y su vínculo con la salud humana. *Revista Argentina de Microbiología*, <https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.11.001>
- Zamora, E. (2016). El cultivo del brócoli. *Serie guías-producción de hortalizas DAG/HORT-010*.
- Zambrano Saavedra, P. S., Arteaga Alcívar, F. X., Cedeño García, G. A., & Cedeño-García, G. A. (2024). Bioestimulantes en plátano: Crecimiento y calidad de plántulas en aclimatación. *Revista Alfa*, 8(24), 1013–1030. <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v8i24.320>
- Zapata- García, S., Espinosa -Jiménez, P. J., & Pérez Pastor, A. (2020). Evaluación agronómica y fisiológica del uso de bioestimulantes en una agricultura intensiva.
- Zúñiga-Castro, K., & Quirós-Cedeño, G. (2021). Los hongos como elementos clave en la productividad del suelo, la agricultura y el bienestar social. *Biocenosis*, 32(1), 46-58.
- Kumar, S., Kumar, S., & Mohapatra, T. (2021). Interaction between macro-and micro-nutrients in plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, 665583.